

N° D'ORDRE

75

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE LYON

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ
(Mention Zoologie)

PAR

劉 張 振 華

LIOU TCHANG TCHENG HOUA

Diplômée de l'Ecole Supérieure de Sériciculture
de Montpellier

Ancienne Directrice de l'Ecole Normale de Sériciculture de Ngan-Yo

1^{re} THÈSE. — ETUDE DU DÉVELOPPEMENT DES RACES
UNIVOLTINES ET DES RACES POLYVOLTINES
DU « BOMBYX MORI » L., DANS LES CONDI-
TIONS NORMALES ET EXPÉRIMENTALES.

2^e THÈSE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le décembre 1932, devant la Commission d'examen

MM. VANEY, *Président.*

SOLLAUD }
PELOSSE } *Examineurs.*

LYON

Imprimerie M. CAMUS
3, Av. de la Bibliothèque

1932

ÉTUDE DU DÉVELOPPEMENT
DES RACES UNIVOLTINES ET DES RACES POLYVOLTINES
DU « BOMBYX MORI » L.
DANS LES CONDITIONS NORMALES
ET EXPÉRIMENTALES

N° D'ORDRE

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE LYON

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ

(Mention Zoologie)

PAR

劉 張 振 華

LIOU TCHANG TCHENG HOUA

- Diplômée de l'Ecole Supérieure de Sériciculture
de Montpellier

Ancienne Directrice de l'Ecole Normale de Sériciculture de Ngan-Yo

1^{re} THÈSE. — ETUDE DU DÉVELOPPEMENT DES RACES
UNIVOLTINES ET DES RACES POLYVOLTINES
DU « BOMBYX MORI » L., DANS LES CONDI-
TIONS NORMALES ET EXPÉRIMENTALES.

2^e THÈSE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le décembre 1932, devant la Commission d'examen

MM. VANEY, *Président.*

SOLLAUD /
PELOSSE / *Examineurs.*

LYON

Imprimerie M. CAMUS
3, Av. de la Bibliothèque

1932

UNIVERSITÉ DE LYON - FACULTÉ DES SCIENCES

Doyen

M. GRIGNARD, O. ✱, ☿ I., ☿ P. N., Membre de l'Institut.

Assesseur

M. VANEY, ✱, ☿ I., ☿.

Professeurs honoraires

MM. VESSIOT, O. ✱, ☿ I.
GÉRARD, O. ✱, ☿ I., ☿ C.
RIGOLLÔT, ✱, ☿ I.
OFFRET, ✱, ☿ I., ☿.
COUTURIER, ✱, ☿ I., ☿.

Professeurs titulaires

MM. GRIGNARD, O. ✱, ☿ I., ☿ P. N. Membre de l'Institut, *Chimie générale*.
DULAC, ✱, ☿ I., *Calcul différentiel et intégral*.
MASCART, ✱, ☿ I., ☿, *Astronomie physique*.
SIRE, ☿ I., ☿, *mécanique rationnelle et appliquée*.
MEUNIER, O. ✱, ☿ I., *Chimie industrielle*.
BEAUVERIE, ✱, ☿ I., ☿ C., *Botanique*.
THOVERT, ✱, ☿ I., ☿, *Physique*.
CARDOT, ☿, *Physiologie générale et comparée*.
VANEY, ✱, ☿ I., ☿, *Zoologie*.
LONGCHAMON, ✱, ☿, ☿, *Minéralogie théorique et appliquée*.
LOCQUIN, ✱, ☿ I., *Chimie générale*.
ROMAN, ☿ I., *Géologie*.
DÉJARDIN, ☿, *Physique*.
DOUIN, ✱, ☿, ☿, *Botanique*.

Professeurs titulaires (sans chaire)

MM. LEMARCHANDS, ☿ I., *Chimie industrielle*.
EYRAUD, ☿, *Mathématiques*.
SOLLAUD, ☿ I., *Zoologie*.

Maîtres de conférences et Chargés de cours complémentaires

MM. AUMÉRAS, ☿, *Chimie physique*.
FROMAGEOT, *Chimie biologique*.
BONNET, ☿ I., *Zoologie appliquée et Zootechnie*.
MAYET, ✱, ☿ I., ☿, *Anthropologie*.
PELOSSE, ☿, I., *Sériciculture*.
DONGIEUX, ☿ I., *P. C. N. supérieur*.
SEYEWETZ, ✱, ☿ I., *Matières colorantes artificielles*.
Mlle BACHRACH, ☿ I., *Physiologie*.
MM. DARESTE DE LA CHAVANNE, ☿ I., *Géologie*.
DUFAY, *Astrophysique*.
VIRET, *Etude des Roches*.
RANSON, *Géométrie supérieure*.

Secrétaire

Mme NÉTIEN, ☿ I.



INTRODUCTION

Parmi les pontes déposées par des papillons de Bombyx mori de race annuelle, il n'est pas rare de voir, pour une portion plus ou moins grande d'œufs ou « graines », l'éclosion se faire une douzaine de jours après la ponte, sans passer par l'hivernation habituelle. C'est ce qu'on appelle le bivoltinisme accidentel, connu de tous les sériciculteurs. Pour quelle raison ces œufs ont-ils le privilège de continuer sans arrêt leur développement jusqu'à l'éclosion, alors que d'autres, beaucoup plus nombreux, pondus par la même femelle et placés dans les mêmes conditions, s'arrêtent pour un temps donné au stade de la bandelette germinative ? MAILLOT et LAMBERT remarquent que de telles éclosions exceptionnelles se produisent surtout lorsque les pontes s'effectuent dans une salle chaude et sèche, et que les œufs qui bivoltinisent sont principalement ceux pondus par les premiers papillons sortis des cocons. C'est évidemment là un fait intéressant à connaître, mais la cause de ce développement accidentel est encore inconnue. Il n'est pas douteux que son étude pourrait fournir des précieuses données, non seulement aux sériciculteurs, mais aussi aux embryologistes et aux biologistes.

Depuis une cinquantaine d'années, de nombreux travaux ont été publiés relatifs à la maturation, à la fécondation et à l'embryogénèse des œufs normaux de vers à soie.

Ces études ont été faites surtout après que les œufs ont été débarrassés de leur coque chitineuse, dure, épaisse, et peu transparente, ainsi que celle des autres insectes.

Si l'œuf de ver à soie, très bien protégé, se présente d'une manière idéale pour l'éleveur, il n'en est pas de même pour l'observateur, qui en raison de la coque gênante et de la petitesse des éléments, ne peut voir ni la fécondation, ni les mitoses embryonnaires facilement observables sur d'autre matériel plus favorable. Les seuls indices extérieurs du développement sont les changements de couleur de l'œuf, dus à des accumulations de pigments dans les cellules séreuses.

L'étude cytologique du développement du ver à soie est parfois délicate et laborieuse, ce qui explique pourquoi nos connaissances sur ce sujet sont loin d'être aussi complètes que sur celui d'autres invertébrés, malgré le nombre de chercheurs qui se sont occupés plus particulièrement de ce précieux Lépidoptère.

Le bivoltinisme artificiel est bien connu de tous les sériciculteurs ; il est actuellement pratiqué dans tous les laboratoires séricicoles.

Toute une série de méthodes permettent de l'obtenir. Nous allons brièvement les résumer et en faire un court historique, en les classant suivant la méthode employée.

1° Effets du brossage. — En brossant fortement les œufs pondus depuis 1 à 3 jours, BERGANE (1856), TERNI (1870), puis VERNON, SUZANI et DUCLAUX obtinrent des éclosions abondantes (40 à 50 %). Des œufs plus âgés (4 à 5 semaines) soumis à ce traitement, donnent une proportion beaucoup plus faible, 5 % seulement.

2° Effet de l'électricité. — D'après VERNON, QUAJAT (1874), et DUCLAUX (1876), l'électricité est un facteur de bivoltinisation. Duclaux, en 1876, remarque comme dans le cas de brossage, que la proportion d'éclosion est d'autant plus grande que la graine est plus jeune.

MASAKICHI HORI (1923) essaye l'incubation électrique des œufs de ver à soie. Différents traitements électriques sont employés :

a) Incubation électrique simple : les œufs reçoivent une décharge électrique à la suite de laquelle les univoltins éclosent en 9 jours, les bivoltins en 8 jours.

b) Incubation électrique et froid agissant simultanément : les univoltins éclosent en 10 jours, les bivoltins en 9 jours.

c) Incubation électrique et froid agissant alternativement : la décharge pouvant précéder ou suivre l'action du froid : les univoltins éclosent en dix jours, les bivoltins en neuf jours.

3° Effet de la chaleur. — En exposant des œufs de race univoltine à une température assez élevée, 60° centigrades par exemple, pendant une minute, BELLATI et QUAJAT (1895) ont obtenu jusqu'à 20 % d'éclosion.

Les mêmes auteurs obtinrent de 84 à 96 % et même, dans quelques cas, des éclosions complètes en plongeant alternativement des œufs, à dix reprises consécutives, dans l'eau chaude et dans l'eau froide. Cette méthode est fréquemment utilisée dans la province de Canton, en Chine, où les éleveurs l'emploient de façon empirique sur des œufs n'ayant pas changé de couleur et sans qu'ils aient jamais déterminé exactement la température la plus favorable. Ce procédé, qui donne de bons résultats, a été établi à la suite de longs tâtonnements empiriques.

4° Effet du froid (hivernation artificielle). — MOEGLIN (1839), PARROTET (1842), BAREA (1863), GIANELLI DE FARDO (1869), ont reconnu que sous l'influence d'un refroidissement préalable, le développement embryonnaire des œufs univoltins, est accéléré. Ils obtiennent des éclosions en été.

Puis TERNI et DUCLAUX (1869) reprirent ces expériences en soumettant les œufs de vingt-cinq jours au froid pendant quarante-cinq jours. Ils eurent de nombreuses éclosions après un court séjour à la température ordinaire.

Pour les œufs de cinq à six mois, un refroidissement de quelques jours suffit pour les faire éclore rapidement après incubation. Des sériciculteurs chinois augmentèrent encore la durée d'action des basses températures jusqu'à soixante-dix à quatre-vingts jours sur des œufs de cinq à six jours après la ponte. En soumettant ensuite ces œufs à l'incubation de températures progressivement croissantes, ils obtinrent de très bons résultats.

5° Effet de l'oxygène. — *Les mêmes savants italiens ont encore constaté l'action de l'oxygène sur le bivoltinisme. En effet, le séjour d'œufs âgés de 24 à 30 heures dans une atmosphère d'oxygène, a donné des éclosions plus ou moins complètes.*

6° Action des acides. — *C'est par l'action des acides minéraux, tels que l'acide chlorhydrique et l'acide nitrique, employés d'abord par BOLLE (1877 et 1878), puis par VERNON et QUAIAT (1878), qu'on obtient les résultats les meilleurs et les plus sûrs ; aussi c'est ce dernier acide que nous avons employé au cours de nos travaux.*

Ces quelques exemples suffisent à montrer que des agents les plus divers : mécaniques, physiques ou chimiques, peuvent permettre l'éclosion rapide d'œufs normalement univoltins, en provoquant un bivoltinisme artificiel. L'étude que nous nous sommes proposé de faire est très limitée.

Après l'étude de l'œuf normal de race univoltine, œuf vierge et œuf fécondé, nous nous attacherons particulièrement à l'étude du développement des œufs univoltins traités par l'acide chlorhydrique, et à celui des œufs univoltins bivoltinisés par l'action combinée de l'acide chlorhydrique et du froid.

Nous comparerons le développement des œufs dans ces deux modes de bivoltinisation, avec celui des univoltins normaux et celui des bivoltins naturels.

Nous nous contenterons de mentionner les principaux faits d'histogénèse et d'organogénèse qui sont nécessaires pour mieux comprendre les phénomènes qui nous préoccupent.

Pour de plus amples détails, nous renvoyons le lecteur aux ouvrages spéciaux parus sur le développement du Bombyx mori.

Avant d'entrer dans l'exposé de nos travaux, nous tenons à présenter l'expression de notre profonde reconnaissance à Monsieur le Professeur Vaney, de la Faculté des Sciences de Lyon qui, avec une très grande bienveillance, nous a permis de poursuivre dans de bonnes conditions nos recherches dans son laboratoire. Nous le remercions bien vivement de tout l'intérêt qu'il a toujours témoigné pour nos travaux, et des précieux conseils qu'il n'a cessé de nous prodiguer.

Nos sentiments de vive gratitude s'adressent aussi à Monsieur J. Pelosse, chargé du cours de sériciculture, qui a dirigé nos recherches et nous a mis au courant de toute la technique. C'est en grande partie à sa constante direction que nous avons pu effectuer nos travaux.

Nous devons remercier tout particulièrement Mademoiselle Soumé Tcheng, ancienne présidente du Tribunal de Shangaï, de ses précieux encouragements et de sa constante sollicitude durant nos études en France.

Nous remercions également Monsieur Lambert, directeur de l'Ecole Supérieure de Sériciculture de Montpellier, ainsi que Monsieur Beringuier, qui ont bien voulu nous envoyer gracieusement toutes les sortes de cocons et de graines nécessaires pour nos recherches.

Nous exprimons aussi notre vive reconnaissance à M. le Doyen Jean Lépine, Président du Conseil d'administration de l'Institut Franco-Chinois et à M. le Professeur Courant, Secrétaire de cette Association, pour l'intérêt qu'ils nous ont toujours témoigné.

J'adresse aussi mes meilleurs remerciements à ma chère camarade de laboratoire, Mademoiselle Suzanne Sonnery, licenciée ès-sciences, qui m'a beaucoup aidée dans la rédaction de ce mémoire, ou par les renseignements qu'elle m'a souvent donnés.

CHAPITRE PREMIER

MATÉRIEL ET TECHNIQUE

La plupart des œufs ayant servi dans nos recherches proviennent de papillons de *Bombyx mori* de la race française univoltine du Var, à cocons roses. D'ailleurs nous avons obtenu les mêmes résultats avec les œufs de race chinoise à cocons dorés et blancs.

Pour obtenir des œufs uniformément fécondés, il faut accoupler mâle et femelle dès leur sortie du cocon.

La durée de la copulation peut être de trois à quatre heures ; on sépare les papillons après ce temps. La femelle se met à pondre presque aussitôt. Nous avons utilisé pour nos recherches des œufs pondus par la même femelle, pendant la première heure de ponte, afin que les œufs utilisés dans nos expériences soient à peu près au même stade de développement. C'est là un point assez important, qu'il ne faut pas négliger. Malgré tous les soins apportés aux expériences, la sensibilité des œufs vis-à-vis du traitement qu'ils subissent ultérieurement, présente souvent des variations

dues à de faibles différences d'âge, qui font qu'une portion plus ou moins grande de la ponte ne se développe pas après le traitement bivoltinissant. En effet, parmi les œufs réfractaires, on peut en distinguer deux catégories. Les uns se dessèchent après l'immersion dans l'acide: ce sont probablement les plus jeunes, par conséquent les plus sensibles. Les autres résistent au traitement, et ne se développent qu'au printemps suivant: ce sont sans doute les plus âgés, donc les moins sensibles. En prenant la précaution signalée ci-dessus, le nombre des œufs non évolués diminue considérablement, et peut arriver à être nul. Après cette remarque importante, nous allons résumer succinctement de quelle façon ont été faites nos expériences:

Les œufs univoltins pondus et fécondés depuis 24 heures ont été divisés en *cinq lots*, chacun de ceux-ci subira un traitement différent.

Le *premier lot* est traité, pendant quatre minutes, par l'acide chlorhydrique concentré.

Le *deuxième lot* est soumis, pendant 48 heures, à une température de -6° C.

Le *troisième lot* est soumis d'abord à une basse température, comme le deuxième lot, puis traité ensuite, pendant quatre minutes, par l'acide chlorhydrique.

Le *quatrième lot* est traité d'abord par l'acide chlorhydrique et soumis ensuite à une température de -6° C, pendant 48 heures.

Le *cinquième lot* ne subira aucun traitement et servira de lot témoin.

Les œufs traités par l'acide chlorhydrique seront

immédiatement après lavés à l'eau courante, afin d'enlever toute trace d'acide.

En vue d'une étude comparative cytologique et histologique, on fixera les œufs de 12 heures en 12 heures, jusqu'à l'éclosion des jeunes chenilles. A cet effet, un fixateur très pénétrant doit être employé, car les œufs de *Bombyx mori* sont protégés par une coque très résistante.

Nous avons choisi comme fixateur le mélange de GILSON, ayant la composition suivante :

Alcool absolu : 1 vol.

Acide acétique : 1 vol.

Chloroforme : 1 vol.

Sublimé à saturation.

La durée de fixation varie suivant l'âge des œufs. Ceux récemment pondus (ne dépassant pas 24 heures) se laissent pénétrer facilement : 30 minutes suffisent pour qu'ils tombent au fond du flacon renfermant le mélange fixateur, ce qui indique la fin de l'opération.

Par contre, les œufs plus évolués demandent un temps de fixation plus considérable : si au bout de deux heures les œufs ne sont pas encore tombés au fond, il est nécessaire de faciliter la pénétration du fixateur par la chaleur. En chauffant jusqu'à 45° ou 50°, les œufs les plus âgés tombent en peu de temps, après avoir été bien pénétrés par le fixateur. Il faut alors les retirer aussitôt et les laver à l'alcool à 70°, afin que le contact prolongé du fixateur ne les altère pas. Les œufs ainsi fixés peuvent être conservés dans l'alcool à 90°.

Nous avons déjà dit plus haut que la coque rigide

constituait une difficulté pour la réalisation de bonnes coupes en série de ces œufs. C'est pour surmonter cet obstacle que BATAILLON et TCHOU-SU (1931) cherchèrent et trouvèrent un mélange capable de dissoudre la substance constituant la coque des œufs. Il leur fut alors possible d'étudier la fécondation et le parthénogénèse. Nous n'avons pas employé leur liquide et leur méthode, parce que nos études s'appliquaient à des œufs dont le développement est assez avancé. Le contenu plus consistant, plus condensé, est indiscutablement moins fragile que celui d'un œuf à ses tout premiers stades.

Pour effectuer des coupes dans les œufs, nous avons dû les débarrasser préalablement de leur coque. Nous nous sommes contenté d'enlever délicatement la coque externe des œufs dont nous voulions étudier le développement en suivant le procédé déjà utilisé par VANEY et CONTE.

Cette opération exige une certaine habileté manuelle, que nous sommes parvenu à acquérir ; malgré cela, le pourcentage des œufs abimés est toujours considérable.

Le détachement de la coque est facilité par le passage des œufs dans l'alcool absolu pendant 24 heures. Il est nécessaire d'orienter convenablement les œufs afin de pouvoir les couper à notre gré. Toutes nos coupes ont été faites dans le sens longitudinal de l'embryon. Elles ont environ 10 μ d'épaisseur, et sont colorées à l'hématoxyline de Benda pendant 24 heures, après mordantage à l'alun de fer ammoniacal à 2,5 % (5 à 6 heures).

Après déshydratation complète et passage au toluène, les coupes sont montées au baume de Canada. Tout cela appartient aux manipulations courantes de la technique histologique sur lesquelles nous n'insisterons pas davantage. Sur les préparations bien colorées, la chromatine est d'un beau noir, le vitellus et le cytoplasme sont plus clairs. Aucun colorant complémentaire n'est nécessaire pour mettre en relief les caractères cytologiques.

Les œufs normaux de race univoltine n'ayant subi aucun traitement ont été étudiés de la même façon. Nous les avons fixés de 12 heures en 12 heures, jusqu'au stade d'arrêt hivernal du développement et ils ont servi comme témoins pour permettre la comparaison avec les œufs ayant subi les traitements bivoltinisants. Au printemps suivant, nous en avons mis en incubation et fixé tous les jours jusqu'à l'éclosion, afin de les comparer avec les œufs bivoltinisés.

Nous avons aussi étudié la race bivoltine de première génération. Nous avons fixé des œufs tous les jours, depuis la ponte jusqu'à l'éclosion, ce qui nous a permis de comparer leur développement avec celui des œufs univoltins bivoltinisés et des œufs univoltins normaux.

CHAPITRE II

ÉTUDE DE L'ŒUF NORMAL DE RACE UNIVOLTINE

A. — HISTORIQUE

Le développement du *Bombyx mori* univoltin a été étudié depuis fort longtemps par différents auteurs qui l'ont examiné à divers points de vue :

DUCLAUX (1869) a spécialement étudié les échanges respiratoires des œufs univoltins pendant le repos hivernal. Il attribue une importance capitale au temps d'hivernation dans la maturation protoplasmique indispensable au développement.

TICHOMIROFF (1891) étudie la physiologie du développement de l'œuf univoltin ; il constate que le stade de diapause correspond à la formation des feuillets germinatifs. Il étudie chimiquement les œufs mis en incubation au printemps.

Les études de LUCIANI et PIUTTI (1888) portent sur les phénomènes respiratoires des œufs univoltins de *Bombyx mori*. Ces auteurs distinguent également trois phases dans le développement de l'embryon :

1° *La période d'été*, qui va de la fécondation à la formation de la bandelette germinative et à l'édification des sphères vitellines.

2° *La période d'hivernation*, s'étend pendant les neuf mois suivants.

3° *La période d'incubation*, où l'embryon se forme complètement. VANEY et CONTE (1911) ont montré que ces termes de périodes d'été et d'hivernation sont impropres, car la première période comprend en réalité un temps d'édification et un temps de ralenti ; de plus, l'hivernation peut se prolonger au delà de l'hiver.

Ils les remplacent par les appellations suivantes :

1° Période de constitution de la bandelette germinative et des éléments vitellins.

2° Période de vie ralentie.

3° Période d'édification embryonnaire.

Ces auteurs ont surtout noté les variations des teneurs en graisse et en glycogène au cours de chacune des périodes de la vie embryonnaire ; TICHOMIROFF (1885), ainsi que VANEY et MAIGNON (1911), s'étaient également occupés de cette question. Il résulte des travaux de VANEY et CONTE que la teneur en graisse, à peu près constante pendant la première période, baisse considérablement pendant la vie latente et augmente dans la période d'édification embryonnaire.

Le glycogène diminue pendant la première phase de formation de la bandelette germinative et des cellules vitellines, de même que pendant la troisième pé-

riode d'édification très active de l'embryon. Cet hydrate de carbone s'accumule pendant la période de vie ralentie.

Au point de vue de l'organogénèse, l'épithélium du mésentéron embryonnaire a été étudié par VERNON (1898 et 1905), qui n'y voit que des cellules cylindriques ; il considère les cellules caliciformes comme provenant de la dégénérescence des éléments cylindriques. VIGNON (1901) et FOA (1917), puis TCHANG-YUNG-TAI (1931) constatent la présence permanente des cellules caliciformes et des cellules cylindriques. Ce dernier auteur note que les rénovations épithéliales sont continues et partielles, à l'encontre de ce que prétendait VERNON.

BATAILLON et TCHOU-SU (1928) étudient les œufs de *Bombyx mori* plus spécialement au point de vue de la maturation, de la fécondation et de la polyspermie.

La spermatogénèse et l'ovogénèse du *Bombyx mori* ont été étudiées par MACHIDA (1919 et 1926).

Le rôle des substances de déchet avait été noté par ROUBAUD, qui attribuait la diapause à une intoxication par des substances de rebut.

B. — ETUDE DE L'ŒUF VIERGE

1° **Historique.** — Certains auteurs : LÉCAILLON, LAMBERT et MAILLOT, ont signalé chez les œufs vierges parfois des changements de coloration caractéristiques du développement de l'embryon. LÉCAILLON a même obtenu dans certaines conditions, des développements

complets de ces œufs, jusqu'à l'éclosion de chenilles vivantes (1916-1917). Mais dans les expériences faites dans ce sens, en Italie et en France, en particulier à la Station séricicole du Rousset, où P. VIEL a isolé soigneusement un grand nombre de femelles, on n'a jamais obtenu un développement total de l'embryon. On n'a eu que le début de la formation de la bandelette germinative. Un traitement tel que l'action de l'acide chlorhydrique provoque une expulsion de déchet et amène aussi la formation d'une membrane d'activation irrégulière. L'œuf traité change de couleur, à l'intérieur s'organise un blastoderme analogue à celui des œufs fécondés, mais nous n'avons jamais observé de développement complet.

Cette réaction membranogène a été signalée par BATAILLON et TCHOU-SU (1931) ; ils ont obtenu expérimentalement dans les œufs vierges de bivoltins, l'émission d'un globule polaire, qui est habituellement retenu.

A la fin de la ponte d'une femelle fécondée, il apparaît souvent des œufs non activés qui sont de deux sortes : des œufs vierges, pondus avant maturité, au stade spirème et non imprégnés ; puis des œufs imprégnés, à forte polyspermie, mais non activés. BATAILLON explique (1928) la résistance à l'activation qu'offrent ces œufs réfractaires par ce fait que le stade du fuseau est mal orienté et que ces œufs sont immatures.

2° Description de l'œuf. — L'œuf de *Bombyx mori* est ovoïde, légèrement aplati, ayant environ un millimètre de diamètre moyen. Les dimensions varient avec les différentes races. La couleur est jaune clair au

moment de la ponte. A l'extérieur se trouve une coque solide, translucide, elle est perforée de fins pores microscopiques.

Avant la fécondation de l'œuf, la coque présente une ouverture polaire béante, « le micropyle », qui est bouchée après la fécondation par un vernis sécrété par la femelle.

L'intérieur de la coque est tapissé par une membrane vitelline qui entoure l'œuf chargé de vitellus. Celui-ci est formé de globules vitellins de dimensions variées, tenus en suspension dans une substance semi-fluide.

3° Observation sur le vivant. — Les œufs vierges présentent à peu près la même constitution que les œufs fécondés. De forme ovoïde, ces œufs sont légèrement convexes au début ; puis les faces s'aplatissent, deviennent concaves, et arrivent à se toucher lorsque l'œuf est desséché.

Ces œufs ne changent habituellement pas de couleur, c'est-à-dire qu'ils gardent extérieurement la teinte jaunâtre jusqu'à leur dessèchement.

4° Examen des enveloppes : Chorion et membrane Vitelline. — *Chorion.* — Nous avons examiné des coupes faites sur des œufs recueillis et traités immédiatement après la ponte et provenant de femelles non fécondées. L'œuf est entouré d'un *chorion* sécrété par les cellules folliculaires de l'œuf dans le tube ovarique.

D'après Verson (1884) et Tichomiroff, le chorion de l'œuf de *Bombyx mori* n'est pas de nature chitineuse

comme on le croyait généralement (ce qui est le cas pour certains œufs d'insectes), mais il est formé d'une substance différente de la chitine, soluble dans une solution de potasse à 3 %, et qui offre quelque analogie avec la **kératine**.

Le chorion est parcouru par trois fins canalicules partant d'un infundibulum représentant le micropyle. La surface du chorion garde l'empreinte des cellules folliculaires de la gaine ovarique qui l'ont sécrété.

La surface interne de cette coque est tapissée par une membrane très mince, transparente, la membrane vitelline. Elle entoure une substance semi-fluide : le *vitellus*, qui apparaît au microscope formé de petits globules nageant dans une substance plus fluide.

5° Membrane vitelline. — Ces œufs sont recouverts d'une faible membrane vitelline qui entoure le vitellus et qui tapisse l'intérieur de la coque. Elle est bien différente de la membrane d'activation des œufs fécondés.

Chez les œufs vierges n'ayant subi aucun traitement, ainsi que BATAILLON et TCHOU-SU (1930) l'ont déjà signalé, je n'ai jamais observé de membrane d'activation.

Ces œufs ne se développent pas ; ils sont activés soit par le spermatozoïde (œuf fécondé), soit sous l'action de certains facteurs qui provoquent le développement de l'œuf par parthénogénèse.

C. — ETUDE DE L'ŒUF FECONDE

1° Observation sur le vivant. — L'aspect et les dimensions de l'œuf fécondé sont identiques à ceux de l'œuf vierge. Les œufs fécondés changent de couleur. Ils sont jaunes et turgescents au moment de la ponte, puis s'aplatissent légèrement et changent de teinte. L'aplatissement est dû à une déshydratation : les œufs exhalent de la vapeur d'eau et de l'acide carbonique et perdent de leur poids primitif quand ils sont conservés dans un air sec. Les changements de coloration correspondent au développement de l'embryon : les œufs d'abord jaunes deviennent brun foncé 36 heures après la ponte (à ce moment la masse se rétracte dans l'œuf), puis gris-brun et grisâtres (5 à 6 jours après la ponte). Ils restent gris jusqu'au printemps suivant ; ils deviennent blanchâtres au moment de l'éclosion.

La température, en agissant sur le développement, paraît modifier plus ou moins la teinte des œufs. Nous examinerons le cours de ces changements de coloration dans l'étude de la séreuse des univoltins.

2° Examen des enveloppes : Chorion, membrane vitelline et membrane d'activation :

Chorion : Il est composé d'une substance mince et transparente qui sert d'enveloppe à une masse semi-fluide riche en vitellus. Il est semblable à celui de l'œuf vierge déjà décrit.

Membrane vitelline : C'est une membrane extrêmement mince qui tapisse l'intérieur du chorion. Elle englobe le vitellus et, dans les œufs fécondés, la membrane d'activation. Elle n'apparaît pas dans les coupes parce qu'en décortiquant les œufs elle est généralement enlevée avec le chorion, auquel elle adhère.

Membrane d'activation : Les œufs fécondés présentent immédiatement après la ponte une couche extérieure de substance visqueuse et granuleuse formant une membrane épaisse, située entre la membrane vitelline et la membrane séreuse ; on la désigne sous le nom de « membrane de fécondation » ; elle peut être désignée aussi comme membrane d'activation.

On tend à considérer la différenciation de cette membrane comme un phénomène général apparaissant dans tous les cas d'activation. LOEB le considère comme la « réaction corticale » de l'activation et BATAILLON insiste sur la notion de « réaction d'épuration », origine du processus membranogène.

3° Origine de la membrane d'activation. — Elle s'est constituée lors de la pénétration du spermatozoïde à l'intérieur de l'œuf. C'est le résultat morphologique de l'activation due à l'élément mâle. La théorie de BATAILLON et TCHOU-SU (1931) tend à faire de l'épuration une condition primordiale de l'activation.

Il est d'ailleurs établi d'une façon générale que le liquide périvitellin contient un colloïde issu de l'œuf. L'expulsion est visible dans les œufs d'Ammocète et aussi d'Echinodermes, quand la réaction est lente et

progressive. A la substance colloïde peut s'ajouter du glycogène chez la Grenouille rousse, par exemple. [M. et Mme KOUOPACHI (1926)]. Certains auteurs ont considéré la membrane d'activation comme provenant d'un « soulèvement de la membrane vitelline ». Il est admis qu'elle provient d'une substance colloïde émise par l'œuf et qu'elle est liée à l'activation.

La notion de « réaction d'épuration » émise par BATAILLON (1910), admise par BRACHET (1917) et COURRIER (1924), est actuellement acceptée et les faits que nous avons observés tendent à confirmer cette opinion.

4° Phénomènes nucléaires de la fécondation. — De tels œufs présentent une mitose polaire en *anaphase* avec l'élimination chromatique décrite par Sellier. Il y a peu de polyspermie. Le pronucléus femelle se fusionne avec un seul spermatozoïde ; on a peu d'indication sur la destinée des autres spermatozoïdes.

Les phénomènes nucléaires de la fécondation ont été soigneusement décrits récemment par BATAILLON et TCHOU-SU (1931).

D. — DEVELOPPEMENT DE L'ŒUF FECONDE

1° Examen des enveloppes : Chorion et membrane d'activation. — Pour le *chorion*, nous n'observons rien de particulier, car il paraît se maintenir sans subir de modifications.

Membrane d'activation : La membrane d'activation peut, ainsi que nous le verrons, présenter des variations des plus intéressantes sur lesquelles nous insisterons.

Elle paraît provenir de l'élimination de substances de déchet à la suite d'une « réaction d'épuration », ainsi que l'a supposé BATAILLON (1910). Ces déchets proviennent de la digestion ou de la dégénérescence des cellules vitellines.

Les cellules vitellines digérées par l'embryon, ou en dégénérescence, laissent sur place un résidu formé d'une substance claire, granuleuse, enfermant parfois quelques restes de globules vitellins. Cette substance de déchet est particulièrement abondante aux points où l'activité cellulaire est intense et où par conséquent, l'absorption du vitellus est plus considérable. C'est ainsi qu'aux extrémités de la bandelette germinative qui s'accroissent rapidement, on observe sur tous les œufs d'univoltins — traités ou normaux — ou de bivoltins de première génération — une masse abondante de déchets.

Au moment de la formation de l'intestin postérieur et antérieur, cette quantité de déchets augmente encore. Quand les prolongements amniotiques s'accroissent rapidement jusqu'à se rejoindre sur le côté dorsal de l'embryon, on voit (pl. II, fig. 7) une énorme quantité de déchets autour de ces prolongements, prouvant qu'ils sont le siège d'une activité intense. WHEELER (1890) a signalé l'existence de ces déchets et leur importance dans les phénomènes de blastokinèse. Il a remarqué que l'accumulation de ces déchets était en

raison inverse des échanges avec le milieu extérieur. Ceci concorde avec le fait que nous trouverons davantage de déchets dans les œufs à membrane d'activation mince.

WHEELER signale ces substances de rebut comme formées d'urates et d'acide carbonique, et provenant de la digestion des cellules vitellines. Au sein de ces produits de désassimilation, se trouvent des restes de globules vitellins, incomplètement digérés.

Les cellules vitellines, qui vont être incluses dans l'intestin moyen de l'embryon lors de sa formation, ne seront digérées que lorsqu'il n'y a plus de vitellus à l'extérieur de l'embryon.

Par exemple, dans la planche III, fig. 9 qui représente un œuf univoltin après huit jours d'incubation, l'on ne remarque la présence de substances de déchet qu'à l'intérieur de l'embryon. Puis les cellules vitellines à l'intérieur de l'intestin seront attaquées et digérées par l'embryon, laissant là des masses de déchets en quantité croissante.

Ces substances de déchet, dont nous venons d'examiner la formation, présentent des points de ressemblance avec la membrane d'activation. Aussi peut-on penser qu'elles en sont l'origine.

Dans les œufs univoltins, la pénétration du spermatozoïde provoque une première expulsion de déchets, et une membrane apparaît à ce moment-là, sous la forme d'une mince enveloppe désignée sous le nom de membrane d'activation. Elle disparaît un peu pendant l'hiver ; la plus grande partie des déchets se maintient à l'intérieur, et une faible partie est expul-

sée (pl. I, fig. 4). Au printemps, pendant l'incubation, ils sont éliminés rapidement, sans se déposer en une couche continue. L'action du spermatozoïde, l'hivernation et l'incubation agissant consécutivement ne font apparaître qu'une faible couche visqueuse du fait que l'expulsion des déchets est lente et longue, car plus de dix mois s'écoulent de la ponte à l'éclosion.

Dans nos coupes en série, nous observons, vingt-quatre heures après la ponte, une membrane d'activation peu épaisse, située entre la membrane vitelline et la séreuse et produite au moment où le spermatozoïde a pénétré dans l'œuf. Elle est colorée légèrement comme celle des substances enfermées dans l'œuf et située entre les globules vitellins.

Elle est plus dilatée du côté de la bandelette germinative et au niveau du microphyle. Elle n'est protégée extérieurement que par le chorion et la mince membrane vitelline, et elle se dessèche peu à peu.

Nous avons vu précédemment l'accroissement des déchets au fur et à mesure du développement de la bandelette. Nos coupes dans les œufs de 72 heures en rendant compte (pl. I, fig. 4).

Pendant l'hivernation, l'expulsion est continue, mais très lente. Les déchets s'accumulent à l'intérieur de l'œuf. Puis l'œuf est mis en incubation. Nous avons fixé des œufs chaque jour jusqu'à l'éclosion et pratiqué des coupes dans les œufs recueillis à deux jours d'intervalle. Nous en avons dessiné et décrit une série de coupes. Nous avons exposé, en 1931, les données relatives à la « membrane d'activation », ainsi qu'à la destruction progressive des cellules vitellines et l'accumulation de substances de déchet.

Nous constatons que l'éclosion des univoltins a lieu après l'expulsion de déchets sous l'influence des agents extérieurs : incubation notamment et première chaleur du printemps, qui provoquent des variations de pression osmotique à l'intérieur de l'œuf. Il en résulte l'expulsion de déchets permettant le développement en une vingtaine de jours, si l'on ne tient pas compte de la période d'hivernation.

2° Formation du blastoderme. — Chez le *Bombyx mori*, comme chez la plupart des Insectes où existe la polyspermie physiologique, le premier noyau issu de la fusion de l'un des pronucléus mâles avec le pronucléus femelle se divise rapidement pour donner des noyaux fils ; chacun de ceux-ci s'entoure d'une masse cytoplasmique de forme plus ou moins irrégulière, non limitée par une membrane distincte. Lors de la segmentation de l'œuf, les cellules intravitellines multipliées par cytodiérèse se rendent à la périphérie de l'œuf et constituent le blastoderme. C'est une sorte de syncytium dont les noyaux continuent à présenter des stades de divisions. Nous les voyons de bonne heure s'organiser en cellules; puis l'œuf renferme partout de ces systèmes plus ou moins limités; certaines cellules, se rapprochant de la périphérie par mouvements amoïdes, formeront plus tard la membrane séreuse et la bandelette germinative, tandis que d'autres restent épars au centre de l'œuf : ce sont les noyaux des cellules vitellines. Vingt-quatre heures après la ponte, le blastoderme est formé (pl. I, fig. 3) : des cellules sont alignées en une bande irrégulière occupant un pôle de l'œuf ; dans cette bande nous voyons de magni-

fiques divisions nucléaires (pl. VI, fig. 26). D'autres cellules sont isolées ou groupées par deux ou trois, et ne présentent pas de divisions nucléaires. Les premières forment le début de la bandelette germinative ; les autres donneront la séreuse.

3° Formation de la bandelette germinative. — A partir de 24 heures environ après la ponte, la bandelette germinative commence à se constituer par multiplication des cellules du blastoderme, et il semble aussi, par l'adjonction de noyaux venant de l'intérieur de l'œuf.

Dans les coupes de 62 heures après la ponte, la bandelette germinative prend la forme d'une bande épaisse constituée par trois ou quatre couches de cellules cylindriques et à noyaux arrondis, analogues à ceux qui se trouvent à l'intérieur de l'œuf. Beaucoup présentent des divisions nucléaires (pl. I, fig. 4). La longueur de la bandelette est moindre que celle de la moitié de l'œuf ; ses extrémités sont arrondies et légèrement recourbées vers l'intérieur. Celle qui est près du micropyle de l'œuf est beaucoup plus recourbée. La bandelette commence à s'enfoncer légèrement dans l'intérieur de l'œuf. Le côté extérieur de l'embryon est étroitement recouvert par l'amnios, dont les cellules aplaties à noyaux allongés sont nettement visibles. La membrane séreuse est formée de cellules aplaties à noyaux allongés ; elles renferment des pigments noirs.

Nous avons vu que la bandelette complètement formée va rester un certain temps à l'état de repos, pen-

dant lequel elle ne présente plus de divisions. Pour TICHOMIROFF, c'est au bout de la quarante-et-unième heure que la bandelette est complètement formée. Dans les ouvrages de sériciculture, les auteurs décrivent la bandelette formée après quatre ou cinq jours. C'est ce que confirment VANEY et COMTE, qui ont décrit la formation de la bandelette germinative au bout de quatre à cinq jours environ.

Sur nos coupes d'œuf, quatre jours après la ponte, nous ne trouvons plus de divisions nucléaires dans la bandelette germinative, elle est donc achevée vers quatre ou cinq jours. A partir de ce stade, elle reste sans changement jusqu'au printemps suivant.

Au sujet de la diapause ou de l'arrêt du développement, les théories émises sont nombreuses :

Pour certains auteurs (DECOPPET, 1920, HELLES 1926), la diapause est un caractère héréditaire indépendant des conditions extérieures. Pour d'autres, (BABCOCK, 1927, UVAROV, 1929, PICARD, 1926), elle serait en relation dans une certaine mesure avec les conditions de milieu. Certains auteurs considèrent la diapause comme liée aux conditions du milieu intérieur : arrêt de l'évolution des gonades (PARKEL THOMSON, 1927), quantité plus ou moins grande d'enzymes (SHELFORD-SPOONER et TOWNSEUD, 1926-1927), accumulation de substances de déchets (BAUMBERGER, 1914, WESINGER, 1921, ROUBAUD, 1922, 1931, SAJO, 1896).

ROUBAUD (1922), la désigne encore sous le nom d'*asthénobiose*, et cherche à en fournir l'explication. Etudiant chez les *Muscides*, en particulier, cet état de vie latente, il le trouve lié à « une accumulation exa-

gérée de produits d'excrétion résultant d'une forte activité métabolique. Pour reprendre leur évolution, les organismes en diapause doivent subir des influences réactivantes. Et « l'absence de chaleur et la déshydratation par eux-mêmes facteurs inhibiteurs peuvent devenir réactivants en favorisant l'excrétion des produits de déchets ». La période de latence serait, selon ROUBAUD, une cure d'élimination, une épuration physiologique nécessaire.

Mais l'hypothèse de Roubaud vient d'être fortement attaquée par Mlle COUSIN (1932), qui n'admet pas la diapause comme caractère héréditaire résultant d'une « intoxication antérieure ». Après une série d'observations sur différents groupes d'insectes, cet auteur conclut à la dépendance immédiate de la diapause avec le milieu extérieur et pense que « la diapause n'est pas un épisode nécessaire dans la vie des insectes, qu'elle n'est pas non plus un épisode obligatoire. Cousin a obtenu d'une part des diapauses expérimentales et aussi des développements continus en faisant cesser les causes de diapause (froid, humidité, sécheresse).

L'examen comparé du développement des races univoltines et des races polyvoltines du *Bombyx mori* dans les conditions normales et expérimentales ne nous permet pas d'envisager la diapause comme caractère héréditaire. Elle dépend surtout des conditions extérieures puisqu'une race bivoltine de ver à soie transportée dans un pays froid devient univoltine et réciproquement une race monovoltine devient bivoltine si elle est élevée dans les régions chaudes.

Comme nous le verrons dans les chapitres suivants, nos observations nous amènent à considérer que la cause déterminant cette diapause dans le développement de l'œuf du ver à soie est une accumulation de produits de déchet dont l'expulsion peut se produire sous l'influence de la chaleur ou d'un agent déshydratant ou cytolyseur.

Les œufs de race univoltine traités par HCL ou par les autres agents bivoltinisants suppriment le stade de diapause et les œufs bivoltinisés présentent une membrane d'activation formée par l'expulsion des produits de déchets analogues à celle des bivoltins naturels. (Voir la planche des œufs traités et des œufs de la race bivoltine).

Pendant la diapause, l'embryon présente des cellules plus grandes que celles d'un embryon de bivoltins au même stade. Ceci rappelle les observations faites par FOA et d'autres auteurs, qui ont constaté que les cellules de la bandelette germinative deviennent plus grandes aux basses températures.

4° Formation des enveloppes embryonnaires : séreuse et amnios. — A. *Séreuse* : Au moment de la formation du blastoderme, on a vu des cellules isolées ou groupées par deux ou trois, et disposées à la périphérie de l'œuf (pl. I, fig. 3). Au début, elles ne diffèrent pas des cellules qui donneront la bandelette, mais elles ont une destinée toute différente ; ces cellules vont s'allonger, se réunir en une seule couche continue qui sera la membrane séreuse, qui enveloppe l'œuf et qui est située immédiatement au-

dessous de la membrane d'activation. Les noyaux s'allongent et les cellules se pigmentent de plus en plus. Le pigment des cellules semble provenir de la chromatine des noyaux. La pigmentation change de teinte et donne à l'extérieur de l'œuf une coloration de plus en plus foncée que l'on observe par transparence à travers la membrane séreuse. Du vitellus va se disposer entre l'amnios et la séreuse, la séparant ainsi de la bandelette germinative. Dans une coupe d'œuf de vingt-quatre heures (pl. X, fig. 5), les cellules ne sont pas encore réunies, chacune est entourée d'une membrane, comme les cellules du blastoderme. Mais je n'ai jamais trouvé de divisions nucléaires dans ces cellules.

A la périphérie du vitellus, on voit des noyaux contre la membrane de séparation. L'œuf est alors jaunâtre extérieurement. Dans l'œuf de trente-six heures (pl. X, fig. 47), ces noyaux pénètrent dans la couche périphérique, qui deviendra l'ébauche de la membrane séreuse.

A ce stade, les cellules sont réunies. Elles ont un noyau arrondi, qui ressemble beaucoup à ceux observés à l'intérieur du vitellus. Aux points où les noyaux de l'intérieur semblent pénétrer dans la séreuse, la membrane qui la sépare du vitellus apparaît indistincte. A ce stade, l'œuf est brun clair.

Dans un œuf de quarante-huit heures (pl. X, fig. 46), les noyaux de la séreuse ont une forme allongée. La membrane séreuse est nettement délimitée du côté interne et du côté externe. Certaines de ses cellules présentent encore une allure globuleuse et renferment un noyau arrondi, tandis que d'autres sont plus

ou moins étirées avec un noyau présentant une forme allongée. Dans un œuf de soixante-deux heures (pl. VII, fig. 48), toutes les cellules de la séreuse sont allongées, amincies, et légèrement pigmentées, et on ne voit pas de limites intercellulaires, mais un bord commun interne et externe. Les noyaux sont très allongés. Ce stade correspond à une teinte extérieure de l'œuf grisâtre.

Dans un œuf de quatre jours (pl. X, fig. 49), la membrane séreuse est complètement formée et bien délimitée. Les noyaux sont très allongés, enfermés dans un protoplasme contenant de nombreux pigments noirs sous forme de petites ponctuations. A ce stade, l'œuf présente extérieurement une teinte grise. La bandelette germinative est formée. L'œuf reste à ce stade pendant toute l'hivernation.

Au printemps, après deux jours d'incubation, la membrane séreuse présente une couche extérieure jaunâtre. Les pigments sont disposés par zones alternant avec des régions moins pigmentées. Les régions foncées ne sont pas délimitées nettement à l'intérieur (pl. X, fig. 50). Les pigments sont plus violets. La teinte générale de l'œuf est gris foncé.

A partir de ce stade, les pigments noirs se répartissent uniformément dans la membrane séreuse qui, cependant, est toujours bordée d'une couche moins pigmentée, colorée en jaune brun sur les coupes (pl. X, fig. 51). Cette pigmentation forme une bordure noire autour de l'œuf, sous un faible grossissement : cette formation demeure jusqu'à l'éclosion.

L'œuf présente une teinte grisâtre qui persiste, avec

quelques variations, jusqu'à la veille de l'éclosion où elle s'éclaircit. Les couleurs variées que présente l'œuf au cours de son développement sont dues aux pigments que l'on aperçoit à travers la membrane transparente.

B. — *L'amnios* apparaît presque en même temps que se différencie la bandelette germinative et la membrane séreuse.

Dans un œuf de soixante-deux heures, l'amnios, déjà formé, recouvre le côté externe ou ventral de la bandelette germinative. Il est constitué par des cellules aplaties à noyaux allongés et chargés en chromatine (pl. II, fig. 7). Au moment où l'œuf est mis en incubation, l'amnios est très légèrement ondulé suivant les replis très saillants de l'embryon, auquel il s'attache toujours à chaque extrémité.

Dans la coupe d'un œuf de quatre jours après la mise en incubation (pl. VII, fig. 26), l'amnios s'est allongé aux deux extrémités de l'embryon, digérant les cellules vitellines qu'il rencontre. Le côté externe de chacun de ces replis amniotiques est formé de cellules à noyaux allongés, tandis que le côté interne regardant l'embryon est formé de cellules à noyaux arrondis. Les prolongements amniotiques se rapprochent peu à peu, le prolongement postérieur se développant beaucoup plus rapidement que l'antérieur. Le feuillet interne de ces replis formera l'épithélium dorsal. Puis, dans un stade ultérieur, l'amnios (feuillet externe des replis réunis) se détache de l'embryon auquel il adhérerait et l'enveloppe complè-

tement (pl. IV, fig. 16). Il garde cette forme jusqu'à l'éclosion (fig. II, pl. 8). Nous avons observé sur l'amnios des formations écailleuses avec des prolongements en forme de poils, ainsi que TICHOMIROFF l'avait déjà signalé.

5° Evolution de la Bandelette. — A) *Formation de l'embryon et de ses organes.* — L'œuf au stade de la bandelette germinative lorsqu'il subit la première chaleur du printemps reprend son développement.

L'amnios qui jusqu'à ce moment est appliqué contre la bandelette, se détache légèrement d'elle. Les sillons primitifs apparaissent deux jours après l'incubation (pl. II, fig. 6) dans la partie médiane. Les extrémités de la bandelette s'allongent vers le centre de l'œuf. A ce stade les replis de la bandelette présentent les ébauches des pattes de l'embryon.

Après quatre jours d'incubation, les appendices de l'embryon deviennent reconnaissables. Le proctodeum et le stomodeum sont formés, et proviennent d'invaginations de l'ectoderme. Les cellules nerveuses se différencient et se groupent en ganglions. Le fait principal à ce stade est l'allongement considérable (pl. II, fig. 7) des prolongements amniotiques du côté dorsal de l'embryon, qui finissent par se toucher et par se souder complètement, quand les organes internes du jeune ver sont complètement formés. Le côté intérieur ectodermique de ces prolongements dorsaux formera l'épithélium du dos de l'embryon.

Une partie des cellules vitellines est englobée par ces replis amniotiques et restera dans la cavité intes-

tinale de l'intestin moyen, dont nous verrons en détail la formation.

Après six jours d'incubation, tous les organes de l'embryon sont complètement formés. L'amnios constitue une enveloppe continue autour de l'embryon, dont il est séparé par une couche de déchets.

Après huit jours d'incubation, l'embryon remplit entièrement l'œuf ; l'amnios subsiste encore, mais l'embryon le détruira dans un stade ultérieur immédiatement avant l'éclosion. Les cellules vitellines intra-intestinales commencent à être digérées. Les organes bucaux présentent des formations chitineuses (pl. III, fig. 9).

Nous reviendrons avec plus de détails sur la genèse des différents organes.

Système nerveux : Il est d'origine ectodermique. Son développement a d'abord été étudié chez les Insectes par KOWALEVSKY, qui signale la formation d'une « plaque nerveuse » par épaissement ectodermique, puis d'une invagination longitudinale et médiane ou « gouttière nerveuse ». HASTSCHEK étudie le rôle de cette gouttière nerveuse dans la formation de la chaîne ventrale : le fond de la gouttière formerait les deux commissures transversales des ganglions d'une même paire, le reste de la gouttière se transformant en hypoderme.

VALLANES (1890), WHEELER (1895) et HEYMONS (1896), ont aussi, par leurs recherches, contribué à nos connaissances sur l'embryologie du système nerveux des Insectes.

Pour la formation de la chaîne ganglionnaire, apparaissent dans l'épaisseur de l'ectoderme, des cellules gangliogènes qui se distinguent des cellules hypodermiques ou dermatogènes par leurs petits noyaux pauvres en chromatine. Elles se transforment ensuite en un grand nombre de cellules nerveuses groupées. Elles forment le pourtour du ganglion nerveux et leur nombre s'accroît. Elles envoient à l'intérieur du ganglion qu'elles forment des prolongements fibrillaires.

Nous avons observé un développement tout à fait analogue chez le *Bombyx mori*, et la présence de ces deux éléments bien distincts : cellules nerveuses et substances fibrillaires (substance ponctuée de VIALLANES et de WHEELER). Cette substance fibrillaire forme les connectifs et les commissures. La gouttière nerveuse ne prendrait aucune part à leur formation. Chez les univoltins que nous avons observés, ce n'est que vers le quatrième jour du *développement printanier* (c'est-à-dire au quatrième jour de l'incubation) qu'apparaît le *système nerveux* (pl. II, fig. 7).

La chaîne ventrale se compose de douze paires de ganglions nerveux. Les ganglions présentent deux sortes d'éléments : des cellules nerveuses arrondies et des fibres réunissant les ganglions d'une paire à l'autre. Cette opinion est celle de TICHOMIROFF.

Dans un embryon de six jours d'incubation, le cerveau apparaît en même temps que la chaîne nerveuse. Il est placé au-dessus de l'œsophage. Il est formé d'une enveloppe de plusieurs couches de cellules arrondies de teinte sombre (colorées par l'hématoxyline) analogues aux cellules nerveuses des ganglions. L'intérieur est occupé par une masse claire.

Épithélium dorsal et cellules trichogènes : L'épithélium dorsal de l'embryon est d'origine ectodermique. Quand l'amnios est formé, les extrémités de la banderlette s'accroissent vers le centre de l'œuf, jusqu'à se réunir. Ces prolongements comprennent une lame ectodermique à l'intérieur, et une lame amniotique à l'extérieur, dont on distingue nettement les caractères différentiels : les cellules ectodermiques intérieures sont arrondies, tandis que les cellules amniotiques sont allongées et renferment de gros noyaux allongés.

Certains auteurs, — tels que TICHOMIROFF, — n'ont pas observé ces différences entre les cellules de l'amnios et les cellules ectodermiques, qui les doublent intérieurement. GRABER a pensé que l'épithélium dorsal provenait de l'amnios, mais une observation plus attentive montre que l'amnios n'a aucune part dans cette formation.

C'est seulement sur des coupes en série que l'on peut se rendre compte de l'origine ectodermique de l'épithélium dorsal. Il apparaît nettement dans nos coupes, sept jours après le traitement (pl. IV, fig. 15). Les cellules intérieures du repli sont arrondies et rapprochées, et sont identiques aux cellules ectodermiques situées à l'entrée du stomodeum et du proctodeum et paraissent en dériver directement.

Les cellules amniotiques extérieures (pl. IV, fig. 14) sont allongées ; elles ont de gros noyaux aplatis, situés souvent à la base de prolongements cellulaires en forme de poils..

L'épithélium dorsal ne se forme pas par différenciation sur place des cellules ectodermiques, mais

provient d'une prolifération des massifs ectodermiques, des extrémités de la bandelette.

Après quatre jours d'incubation (pl. II, fig. 7) les prolongements amniotiques doublés d'ectoderme s'accroissent. Après six jours (pl. II, fig. 8), l'épithélium dorsale est formé et présente une différenciation spéciale : les cellules trichogènes. Celles-ci sont groupées dans des dépressions de l'ectoderme, et l'une d'elles donnera naissance à un « poil ». Après huit jours d'incubation, le poil est formé : il provient des cellules trichogènes, incliné dans le sens antéro-postérieur. Ce n'est en réalité qu'un prolongement cellulaire (pl. III, fig. 9).

TICHOMIROFF ne signale l'apparition des premiers vestiges de poils qu'au treizième jour. Les cellules trichogènes étant groupées par trois ou quatre, la larve présentera des faisceaux de poils. Dans les stades ultérieurs, toute la surface de l'épithélium se recouvre d'une formation chitineuse.

Organes génitaux : Les initiales génitales se différencient de très bonne heure, à un stade où le blastoderme est complètement édifié, et où la bandelette germinative commence à se former. VANEY et CONTE (1910) ont signalé avec précision l'apparition de ces initiales génitales au cours de la différenciation de la bandelette.

Nous avons observé en particulier dans un œuf mâle après six jours d'incubation, l'organe génital complètement formé : les cellules génitales sont réunies dorsalement dans le huitième anneau, en une

masse ovulaire (pl. II, fig. 8). Dans les stades un peu plus avancés, nous avons observé la présence du canal d'éjaculation.

En somme, le développement des organes génitaux du *Bombyx mori* débute de très bonne heure chez l'embryon, ce qui est le cas général des Insectes, et suit les mêmes processus d'évolution que dans les cas étudiés chez d'autres groupes d'Insectes par WEISSMANN (1863), MUSCIDES, LENCKART et METCANIKOFF (1865), GRIMM (1870), BALBIANI (1882-1885), VOELTZKOW (1889), WILL (1888), WOODWORTH (1889), chez *Euvannessa antiopæ*, donnent une origine ectodermique aux cellules génitales. HEYMONS (1895), chez les *Orthoptères* et LÉCAILLON, chez les *Chysomélides*, constatent leur origine mésodermique et leur répartition métamérique.

Cœur : Il a une origine mésodermique, comme l'ont observé KOROTNEFF (1883), chez *Gryllotalpa* ; puis WHEELER et HEYMONS, chez d'autres Insectes. Les cellules initiales du cœur sont distinctes de bonne heure : après six jours d'incubation. Les deux cordons longitudinaux, qui formaient dorsalement les cardioblastes sur toute la longueur de l'embryon, se groupent pour donner les lacunes qui constitueront la cavité du cœur.

Quant à l'origine des éléments du sang, la question sortant du cadre de notre étude, nous ne la traitons pas spécialement. La plupart des auteurs pensent que les globules sanguins ont une origine mésodermique.

D'autres auteurs ont supposé qu'ils proviennent

des cellules vitellines (TICHOMIROFF), de la séreuse (AYERS), ou de l'ectoderme (parois des trachées) (SCHOEFER). Actuellement, on attribue au sang une origine mésodermique (HEYMONS).

Tube digestif : Le tube digestif est formé à l'origine de trois parties bien distinctes : le stomodeum et le proctodeum se forme par invagination ectodermique bien avant le mésenteron. Le proctodeum se forme un peu avant le stomodeum (au quatrième jour d'incubation). Au cinquième jour, ces parties terminales du tube digestif apparaissent comme deux profondes invaginations ectodermiques, en doigt de gant et s'enfoncent dans le vitellus.

L'intestin moyen se formera quand les replis amniotiques auront englobé une partie du vitellus. Les extrémités aveugles du stomodeum et du proctodeum ne se mettent en rapport avec le mésenteron que peu de temps avant l'éclosion.

D'après VERNON (1898-1895), l'épithélium de l'intestin de l'embryon est formé d'une seule sorte de cellules : les cellules cylindriques. Il considère les cellules arrondies comme une dégénérescence des cellules cylindriques. Cet auteur prétend qu'immédiatement avant l'éclosion, l'épithélium du mésenteron se renouvelle entièrement à la suite d'une véritable mue.

VIGNON (1901) et FOA (1917), ont signalé des cellules caliciformes à l'état permanent dans le mésenteron de la larve de *Bombyx mori*. D'après les travaux de TCHANG YENG TAI (1931), l'épithélium du mésenteron embryonnaire serait composé uniquement de petites

cellules arrondies jusqu'au quatrième jour environ avant l'éclosion. A cette époque, ces cellules se différencient en cellules cylindriques et en cellules caliciformes, alternant les unes avec les autres.

Quant à la rénovation de cet épithélium, TCHANG YENG TAI pense qu'elle est continue et partielle.

Dans une coupe d'œuf au quatrième jour d'incubation (pl. II, fig. 7), la partie postérieure du tube digestif se présente comme une courte invagination. Au sixième jour (pl. II, fig. 8), le tube digestif est complètement formé. La paroi est constituée de deux couches de cellules arrondies, dont certaines formeront des cellules cylindriques s'avancant plus ou moins dans la lumière de l'intestin.

Dans la coupe d'œuf de huit jours d'incubation, la paroi du tube digestif moyen est uniformément formée de cellules arrondies alternant avec des cellules cylindriques. La paroi de l'œsophage est formée de deux couches de cellules petites et arrondies, surmontées par endroits de massifs de cellules arrondies.

B) *Changement de position de l'embryon* : WHEELER donne le nom de blastokinèse aux déplacements de l'embryon dans le vitellus. Il les attribue à ce fait que l'embryon se nourrit aux dépens du vitellus et rejette des substances de déchets (urates et acide carbonique) ; pour échapper à ces produits d'intoxication et retrouver du vitellus, il se déplace. Cette opinion a été contredite par HEYMONS (1895), qui attribue le déplacement de l'embryon à son accroissement.

Pour les *Lépidoptères* et pour le *Bombyx mori* en

particulier, nous avons observé que la pénétration de l'embryon à l'intérieur du vitellus est due surtout au passage d'une partie du vitellus entre la séreuse et l'amnios. D'après nos observations dans un œuf de deux jours d'incubation (pl. II, fig. 6) une des extrémités de la bandelette se recourbe en crosse. L'ébauche des pattes se trouve du côté externe de l'œuf. A partir de ce stade, les extrémités de l'embryon présentent des replis et l'embryon s'enfonce plus profondément dans l'œuf.

Dans un œuf de trois jours d'incubation, la tête reste dans la région du micropyle, situation qu'elle conservera toujours ; la partie postérieure s'enfonce vers le centre. A ce stade l'ouverture de la cavité amniotique est à demi-fermée. L'embryon se prépare à se retourner.

Après cinq jours d'incubation, l'embryon s'est retourné et a amené sa partie ventrale du côté du centre de l'œuf. L'ouverture dorsale n'est pas fermée. La tête est toujours du côté du micropyle et se maintient ainsi jusqu'à l'éclosion (pl. IV, fig. 15).

6° Evolution du vitellus. — Immédiatement après la ponte, l'œuf est rempli de globules vitellins parmi lesquels on observe quelques éléments chromophiles nucléaires. Un peu plus tard, vingt-quatre heures après la ponte, les noyaux commencent à présenter des phénomènes de caryocinèse (pl. VII, fig 30). On trouve dans les cellules du blastoderme des restes de globules vitellins incomplètement digérés. L'œuf va passer d'un stade syncytium à un stade d'individualisation cellulaire.

VANEY et CONTE (1910) ont décrit ces éléments d'une façon très complète, nous n'y insisterons pas.

Dans un œuf examiné soixante-deux heures après la ponte, les cellules vitellines s'organisent ; un ou plusieurs gros éléments nucléaires ramifiés groupent un certain nombre de globules vitellins dans une membrane régulièrement arrondie (pl. VIII, fig. 29). Ces cellules vitellines laissent entre elles des lacunes (pl. I, fig. 4). Les cellules du blastoderme se forment comme les cellules vitellines en englobant les éléments vitellins : leurs noyaux sont mieux délimités.

Tous les noyaux du vitellus n'entrent pas dans la formation des sphères vitellines. Quelques-unes se trouvent incluses dans les cellules de la bandelette germinative (pl. I, fig. 4).

Ce stade persiste pendant l'hivernation, mais les espaces entre les cellules vitellines sont plus grands. Les noyaux présentent alors des divisions. Ce stade hivernal n'existe pas dans les œufs de race bivoltine, ni dans les œufs bivoltinisés de race univoltine.

Pendant l'incubation du printemps, il y a au début formation des cellules mésodermiques. On retrouve des noyaux de cellules vitellines présentant des divisions nucléaires. Il y a absorption du vitellus. Celle-ci commence au quatrième jour, où l'on constate que les prolongements amniotiques ont englobé progressivement une partie du vitellus qui se trouve ainsi contre la face ventrale de l'embryon. Les cellules vitellines sont digérées, laissant sur place des produits de déchet (pl. II, fig. 7).

Dans une coupe d'œuf, au sixième jour d'incuba-

tion (pl. II, fig. 8), on ne voit plus que des globules vitellins et pas de noyaux, sauf dans la lumière de l'intestin où la résorption se fait plus tardivement qu'à l'extérieur de l'embryon. Ces cellules vitellines intra-intestinales subissent là une dégénérescence, et leur désintégration donne naissance à une substance granuleuse (pl. III, fig. 9). L'embryon, au huitième jour d'incubation, est complètement développé et occupe tout l'intérieur de l'œuf ; on ne trouve plus de globules vitellins que dans la lumière de l'intestin.

CHAPITRE III

ÉTUDE DU DÉVELOPPEMENT DE L'ŒUF DE RACE UNIVOLTINE ACTIVÉ PAR UN TRAITEMENT A L'ACIDE CHLORHYDRIQUE

A. — HISTORIQUE

DUCLAUX (1876) avait immergé, pendant cinq minutes, des œufs de *Bombyx mori*, âgés de trente-six heures, dans de l'acide sulfurique concentré : à la suite de ce traitement, il obtint quelques éclosions. BOLLE (1897). VERNON et QUAJAT (1878) ont traité des œufs de *Bombyx mori*, âgé de douze à vingt-quatre heures, par immersion dans de l'acide chlorhydrique concentré ou de l'acide nitrique. Ils ont obtenu de meilleurs résultats. L'éclosion, commencée une douzaine de jours après le traitement, a duré neuf jours. Ces auteurs établirent que les acides les plus efficaces étaient par ordre décroissant : les acides chlorhydriques, nitriques, sulfuriques, acétiques et phos-

phoriques, et que les acides boriques, benzoïques, exaliques, citriques, lactiques, pyralliques, salicyliques, etc..., étaient par contre complètement inefficaces. L'étude détaillée du développement après l'action de ces agents bivoltinisants n'a fait l'objet d'aucun travail histologique.

Nous ne reviendrons pas sur l'historique, ni sur les données générales sur le développement normal de l'embryon de *Bombyx mori*, indiqués au chapitre précédent. Nous n'étudierons ici que les particularités dues à la bivoltinisation, en nous basant sur nos recherches personnelles, faites en nous servant de l'acide chlorhydrique comme agent bivoltinisant.

B. — OBSERVATIONS SUR LE VIVANT

Examen microscopique des œufs traités par l'acide chlorhydrique. — Nous avons traité des œufs fécondés, vingt-quatre heures après la ponte par immersion dans l'acide chlorhydrique concentré pendant quatre minutes. Ils présentaient au moment du traitement une teinte jaune clair. Vingt-quatre heures après le traitement, la couleur change, mais irrégulièrement : certains œufs restent jaunes, d'autres deviennent bruns, suivant leur degré de sensibilité à l'acide. Le retard que présentent certains œufs au changement de couleur est dû à l'accumulation tardive, plus ou moins considérable, des pigments dans les cellules de la membrane séreuse ; mais l'explication de ce retard reste inconnue.

Quarante-huit heures après le traitement, tous les œufs sont bruns, et six jours après, ils deviennent grisâtres et gardent cette teinte jusqu'à l'éclosion. Au moment de l'éclosion l'œuf est grisâtre, c'est la teinte de l'embryon, qui ayant mangé l'amnios, est vu par transparence.

Sur tous les œufs traités par l'acide chlorhydrique, on observe un aplatissement remarquable débutant peu de temps après le traitement, et qui s'atténue progressivement cinq à dix minutes après la fin du traitement. Pour mieux montrer ce changement de forme et pour illustrer notre description, nous donnons quelques figures schématiques.

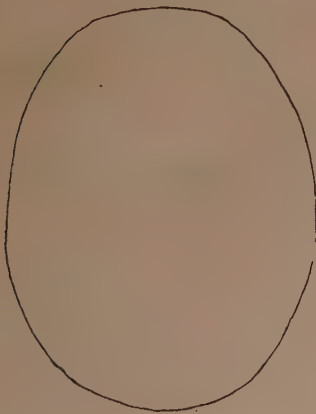


FIG. 1. — Œuf fécondé non traité, 24 heures après la ponte.

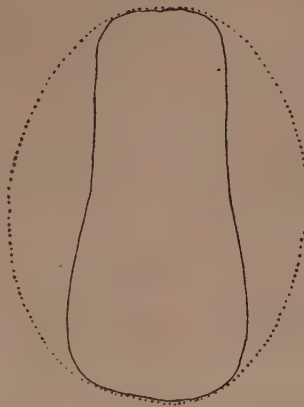


FIG. 2. — Œuf fécondé venant d'être traité par l'acide chlorhydrique.

La figure 1 représente un œuf non traité, c'est-à-dire de forme normale, vu en coupe transversale. Au sortir de l'acide, l'œuf s'aplatit brusquement sur

les deux faces ; c'est ce que l'on remarque sur la figure 2, où les limites en pointillé représentent la forme primitive de l'œuf. Cinq minutes plus tard, la coque bombe de nouveau, mais il subsistera quand même quelques traces de dépression (fig. 3).

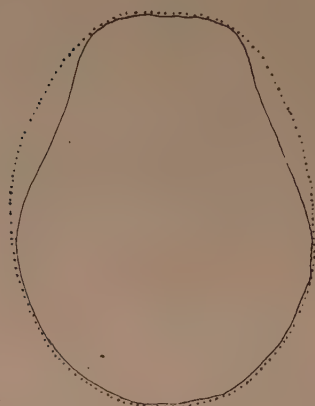


FIG. 3. — Œuf fécondé, 5 minutes après le traitement par l'acide chlorhydrique.

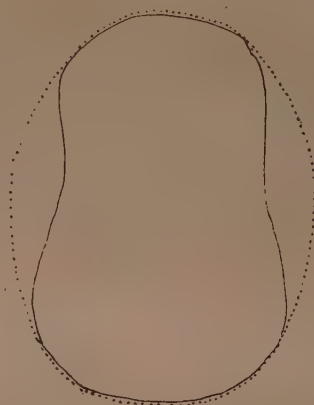


FIG. 4. — Œuf fécondé, 4 jours après le traitement par l'acide chlorhydrique.

Dans les trois premiers⁸ jours du développement, l'œuf reste à peu près dans cet état, sans changement appréciable. Dès le quatrième jour, les dépressions s'accusent de nouveau, comme l'indique la figure 4. A partir de ce moment la forme générale des œufs traités ressemble assez exactement à celle des témoins non traités.

De cette observation sur la modification de la forme extérieure de l'œuf traité, nous retenons deux faits intéressants : 1° un aplatissement brusque de tous les œufs traités, qui se manifeste dès leur sortie du trai-

tement par l'acide ; 2° un autre aplatissement se produisant beaucoup plus tard, aussi bien sur les œufs traités que sur les œufs non traités.

L'explication du deuxième aplatissement est donnée dans tous les livres classiques ; il résulte de la déshydratation de l'œuf.

Quant à l'explication du premier aplatissement, nous y reviendrons quand nous aurons décrit les faits cytologiques.

Dans l'élevage des œufs traités par l'acide chlorhydrique, nous avons obtenu 95 % d'éclosions. Celles-ci ont lieu une douzaine de jours après le traitement. L'éclosion des œufs bivoltinisés se prolonge pendant quelques jours, une semaine en général.

Nous avons obtenu des jeunes chenilles très robustes au premier âge, cependant quelques-unes ont succombé : sans doute le traitement bivoltinisant appliqué prématurément à des œufs en voie de développement, donne naissance à des larves affaiblies. La plupart, au contraire, ont survécu et se sont montrées vigoureuses, attestant que les œufs ont supporté sans dommage l'action du traitement appliqué au moment opportun. Comme alimentation, nous avons donné aux vers des feuilles de mûrier, suivant les conditions habituelles de l'élevage normal du ver à soie. Leur éducation s'est faite dans une salle aérée et sèche, sans apporter aucune modification à la température naturelle.

Nous avons obtenu des cocons trente-six jours après l'éclosion. Les cocons sont riches en soie, le poids de l'enveloppe soyeuse sèche était : maximum : 0,74 gr. ; moyenne : 0,75 gr.

Les cocons gardent leur forme et leur couleur rose pâle.

Notre expérience d'élevage a donné en somme d'excellents résultats ; nous pouvons affirmer n'avoir pas eu de vers malades, mais nous ne pouvons en déduire que le traitement à l'acide chlorhydrique ait tué les germes des maladies. Notre expérience d'élevage a été favorisée par un temps particulièrement beau. Finalement, nous avons obtenu une proportion de 60 % des vers ayant filé leur cocon par rapport aux œufs mis en incubation.

Jusqu'ici, tous les ouvrages de sériciculture affirment que l'acide chlorhydrique n'est pas un agent bivoltinisant pouvant servir dans un élevage industriel, mais qu'il serait tout au plus bon pour des études expérimentales. Il nous semble possible d'affirmer, d'après notre expérience et nos résultats, que ce traitement, au contraire, peut être employé dans un élevage industriel, à la condition de le faire agir sur une proportion d'œufs correspondant aux résultats que l'on désire obtenir.

C. — ETUDE DU DEVELOPPEMENT

1° Examen des enveloppes : membranes d'activation.

— Comme nous l'avons déjà dit, les œufs traités par l'acide chlorhydrique s'aplatissent immédiatement. Cet aplatissement que nous avons signalé précédemment résulte de modifications dans la structure interne de l'œuf.

En examinant comparativement les préparations colorées par l'hématoxyline des œufs univoltins bivoltinisés et fixés immédiatement après le traitement à l'acide chlorhydrique pendant quatre minutes, et celles d'œufs univoltins témoins, on remarque, à un grossissement moyen, que les œufs bivoltinisés sont entourés d'une « membrane d'activation » très épaisse, située entre la membrane vitelline et la séreuse.

Cette membrane se colore comme la substance qui se trouve entre les globules vitellins. Elle est plus foncée dans la partie où se développe la bandelette germinative, et on observe dans cette région, à un très fort grossissement, de très petits granules semblables à ceux contenus à l'intérieur de l'œuf. L'épaisseur de cette membrane n'est pas partout la même : elle est plus grande au niveau du micropyle et dans la région de l'ébauche de la bandelette germinative. Dans ces régions, on observe un vitellus plus dense, à gros éléments. Les œufs univoltins bivoltinisés sont plus grands que les œufs de race bivoltine et renferment une plus grande quantité de déchets. Il est vraisemblable que le traitement par l'acide chlorhydrique a fait varier la pression osmotique à l'intérieur de l'œuf, dont la masse se contracte, s'aplatit, en même temps que les déchets sont expulsés à la périphérie. Ces déchets formeraient alors la couche épaisse (pl. III, fig. 10), que nous avons désigné sous le nom de « membrane d'activation ».

Cette couche est six à sept fois plus épaisse que la membrane de fécondation des témoins (pl. I, fig. 3), et a trois à quatre fois l'épaisseur de la membrane d'ac-

tivation des bivoltins de première génération. Elle se maintient plus ou moins depuis le traitement jusqu'à l'éclosion, c'est-à-dire pendant quatorze jours, temps durant lequel elle n'a pas le temps de disparaître.

Dans les coupes d'œuf, au quatrième jour après le traitement, on observe des produits de déchet dans l'intérieur de l'œuf, analogues à ceux qui composent la « membrane d'activation ». Les mêmes se retrouvent autour des extrémités de l'embryon. Ils proviennent de cellules vitellines digérées par les prolongements amniotiques et embryonnaires. Les matières de réserve (albuminoïdes, glycogène, graisses) ont été absorbées (pl. III, fig. 12), il reste une substance granuleuse et visqueuse. Entre l'amnios et l'embryon, on trouve les mêmes substances qui semblent être aussi le résidu de la digestion des cellules vitellines par l'embryon, ou provenir de la dégénérescence de ces éléments vitellins.

Dans un œuf examiné le cinquième jour après le traitement (pl. IV, fig. 13), l'embryon est plus développé et a absorbé plus d'éléments vitellins ; on trouve une grande quantité de déchets, surtout aux deux extrémités qui ont une activité particulièrement intense. On en trouve aussi en petite quantité entre les cellules vitellines situées au centre de l'œuf.

Six jours après le traitement, la coupe de l'œuf (pl. IV, fig. 14) ne diffère de la précédente que par l'allongement amiotique de l'extrémité postérieure, qui est entourée de déchets. On trouve toujours et de plus en plus cette même membrane granuleuse et visqueuse entre l'amnios et l'embryon. Dans un œuf de

sept jours, on a observé de grosses masses de déchet près de l'ouverture dorsale et sur la face ventrale de l'embryon (pl. IV, fig. 15) : on en trouve toujours entre l'amnios et l'embryon, avec quelques globules graisseux non digérés, inclus dans l'épaisseur du prolongement amniotique.

Un embryon de huit jours (pl. IV, fig. 16) se montre entouré de substances de déchets. La quantité de substances granuleuses diminue entre l'amnios et l'embryon, et elle augmente entre les éléments vitellins situés en dehors de l'embryon.

Les cellules vitellines situées dans l'intestin ont leur forme normale et présentent des noyaux bien nets : elles n'ont pas encore subi de digestion. Les œufs de race univoltine, non traités, qui ont servi de témoins, ont été colorés par la même méthode que les œufs ayant subi le traitement bivoltinissant : ils ont été fixés au même âge (vingt-quatre heures après la ponte) et avaient été pris dans la même ponte.

Dans les coupes des œufs témoins, on observe une faible pellicule, c'est la « membrane de fécondation ». Elle se forme aux dépens de substances éliminées par l'œuf au moment même de la fécondation. On peut donc conclure que la formation d'une membrane particulièrement épaisse est une des caractéristiques de l'*activation* par l'acide chlorhydrique.

2° Formation de la bandelette. — Nous avons traité les œufs de vingt-quatre heures, c'est-à-dire les œufs au stade du blastoderme déjà formé. Les œufs traités se développent rapidement sans présenter le stade hivernal d'une bandelette épaisse et rectiligne.

Quarante-huit heures après le traitement, la bandelette est formée : elle est une fois moins épaisse et deux fois plus longue que dans les œufs témoins, avec une extrémité recourbée en crosse, et elle s'étend sur les deux tiers de la périphérie de l'œuf. C'est la forme caractéristique observée dans les développements non hivernés (pl. III, fig. 11). La formation de la bandelette germinative est d'ailleurs en relation avec la température ; au moment où nous avons fait nos recherches, il faisait un temps tiède (la température oscillant entre 16° et 20°). L'amnios commence à se détacher et suit les ondulations de la bandelette, on voit se différencier les massifs mésodermiques.

Quatre jours après le traitement, l'ébauche des pattes et des anneaux est indiquée. Deux invaginations ectodermiques subterminales et opposées l'une à l'autre forment le début du stomodeum et du proctodeum. Ce stade correspond à celui des œufs univoltins après quatre jours de développement printanier.

Cinq jours après le traitement, les pattes, la chaîne nerveuse, les parties terminales du tube digestif, ont acquis une forme définitive. On voit le début à chaque extrémité de l'embryon de proliférations ectodermiques qui formeront l'épithélium dorsal.

Le prolongement postérieur s'accroît rapidement, comme le montre la fig. 14, représentant la coupe d'un œuf six jours après le traitement. Les cellules amniotiques présentent des productions filiformes. L'épithélium dorsal est en voie de formation et sept jours après ce traitement (pl. IV, fig. 15), il est presque constitué. Il ne reste plus qu'une étroite ouverture dorsale.

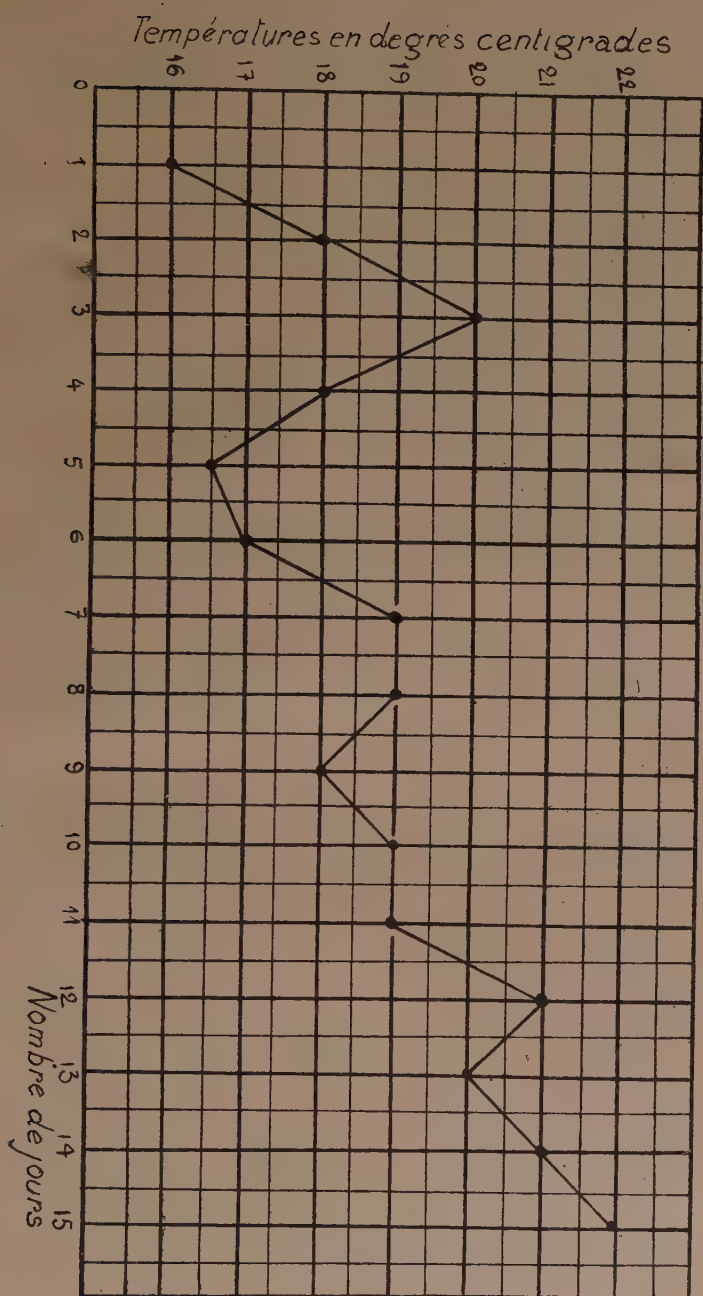


FIG. 5. — Températures du milieu au cours du développement des œufs traités par l'acide chlorhydrique.

Un fait important à signaler ici est l'apparition de l'épithélium de l'intestin moyen et des glandes séricigènes.

L'embryon est retourné, c'est-à-dire que sa face ventrale est disposée vers le centre de l'œuf, et sa face dorsale du côté de la coque. L'embryon est au centre du vitellus, servant à son développement. Huit jours après le traitement, l'embryon est constitué : l'ouverture dorsale est fermée et l'épithélium dorsal est continu. Les parois de l'intestin moyen sont en formation : ce sont de petites cellules arrondies d'origine endodermique.

Stomodeum et proctodeum se mettent en communication avec l'intestin moyen. C'est le stade analogue à celui que présentent les œufs normaux univoltins après six jours d'incubation (pl. II, fig. 8).

L'éclosion se fait treize jours après la ponte, c'est-à-dire douze jours environ après le traitement.

Les œufs univoltins non traités éclosent après douze à quinze jours d'incubation. On voit que dans l'ensemble, le développement immédiat et continu des œufs bivoltinisés par l'acide chlorhydrique est comparable au développement printanier des univoltins normaux.

3° Formation des enveloppes embryonnaires : séreuse et amnios. — A). Sériqueuse : La membrane séreuse définitive est formée quarante-huit heures après le traitement ; c'est-à-dire soixante-deux heures après la ponte. Ce stade correspond à celui de la formation de cette même membrane dans les œufs non traités

quatre jours après le traitement, les pigments sont violets, sur un fond jaunâtre.

B). *Amnios*: L'amnios est complètement formé trente-quatre à quarante-huit heures après le traitement, c'est-à-dire soixante-deux heures après la ponte (pl. III, fig. 11).

Dans un œuf, quatre jours après le traitement, l'amnios se détache de l'embryon et forme des replis aux extrémités. Certains noyaux globuleux et plus renflés que les autres vont donner dans les stades ultérieurs des prolongements écailleux.

Cinq jours après le traitement, l'amnios pousse des replis terminaux. Le repli postérieur seul continue à s'accroître rapidement, digérant les cellules vitellines qui l'entourent. Il englobe une masse importante de cellules vitellines disposées contre la face dorsale de l'embryon. Les deux replis dorsaux de l'amnios se rejoignent dans le vitellus, et forment le dos de l'embryon. On observe tout cela nettement dans un œuf six jours après le traitement (pl. IV, fig. 14). Ici les noyaux arrondis de l'amnios sont la base de prolongements écailleux ou en forme de poils, répartis sur toute la surface de l'amnios et principalement sur le côté extérieur des replis amniotiques. Sur le côté interne de ces replis, les cellules allongées formeront l'épithélium dorsal de l'embryon.

Sur les coupes d'œufs de sept jours (pl. IV, fig. 15), l'amnios présente des prolongements écailleux plus marqués, à la base desquels sont plusieurs noyaux souvent aplatis. Le repli amniotique postérieur a pres-

que rejoint l'extrémité antérieure de l'embryon, digérant, au cours de son accroissement, des éléments vitellins dont on retrouve les déchets.

Huit jours après le traitement (pl. IV, fig. 16), l'amnios entoure complètement l'embryon et se maintiendra ainsi jusqu'à l'éclosion. A la face ventrale de l'embryon, l'amnios suit les replis des anneaux du corps. Les noyaux des cellules de cette enveloppe embryonnaire ont toujours une forme aplatie.

4° Evolution de la bandelette. — A) Formation de l'embryon et de ses organes :

Système nerveux : le système nerveux apparaît quatre jours après le traitement, c'est-à-dire cinq jours après la ponte. Ce stade est analogue à celui que présentent les œufs normaux univoltins au quatrième jour du développement printanier. Au cinquième jour suivant le traitement, la chaîne nerveuse est nettement visible et comprend douze paires de ganglions.

Six jours après le traitement, la chaîne de ganglions a sa forme définitive. Le cerveau apparaît sur la coupe, en forme de croissant, constitué par des cellules arrondies disposées suivant plusieurs couches. Et, au septième jour, le système nerveux est complètement formé.

Organes génitaux : Dans la coupe d'un œuf de huit jours après le traitement les organes génitaux forment une paire d'organes globuleux situés au-dessus

du cœur, dans le huitième anneau de l'embryon, et sont constitués dans le cas de la figure par des glandes génitales mâles.

Epithélium dorsal et cellules trichogènes : Huit jours après le traitement, l'épithélium dorsal est formé. Il est constitué par une seule couche de cellules cylindriques présentant par endroits de grosses cellules invaginées. Ce sont les cellules trichogènes. A un stade plus avancé (dix jours après traitement), on voit sortir de ces groupes de cellules des productions piliformes qui ne sont en réalité que des prolongements de ces cellules trichogènes.

Epithélium intestinal : Cinq jours après le traitement, soit six jours après la ponte, on voit deux invaginations de l'ectoderme aux extrémités de l'embryon. Elles s'accroissent et forment des replis saillants vers l'intérieur de l'œuf (pl. IV, fig. 13).

Sept jours après le traitement, l'intestin moyen commence à se former. Il présente des cellules arrondies incluses dans le vitellus sur le côté ventral, le long de la chaîne nerveuse, depuis le premier ganglion postérieur jusqu'à la tête. La paroi dorsale de l'intestin moyen n'est pas encore formée (pl. IV, fig. 15).

Huit jours après le traitement, l'intestin moyen est complètement formé. Ses parois sont constituées de deux couches de cellules arrondies, quelquefois trois, les cellules superficielles faisant saillie dans le vitellus (pl. IV, fig. 16). A ce stade, les cellules cylindriques n'existent pas encore, elles commencent à apparaître au neuvième jour.

B) *Changement de position de l'embryon* : La bandelette germinative commence à se former à la partie périphérique de l'œuf, puis elle s'enfonce peu à peu vers le centre. Elle prolonge ses extrémités en les recourbant vers l'intérieur de l'œuf. Dans un œuf de quarante-huit heures, une des extrémités de la bandelette se recourbe en crosse. Les ébauches des pattes font saillie du côté externe de l'œuf. A partir de ce stade, les extrémités de l'embryon présentent des replis (pl. IV, fig. 12), et l'embryon s'enfonce plus profondément, mais a toujours la forme d'une bande étroite repliée aux extrémités.

Dans un œuf de six jours après le traitement (sept jours après la ponte), la tête reste dans la région du micropyle ; la partie postérieure s'enfonce vers le centre. A ce stade, l'ouverture dorsale est à demi fermée (pl. IV, fig. 14). L'embryon se prépare à subir un retournement ainsi que nous l'avons décrit dans les œufs univoltins.

Sept jours après le traitement, soit huit jours après la ponte, l'embryon est retourné (pl. IV, fig. 15), et sa partie ventrale est tournée vers le centre de l'œuf. L'ouverture dorsale n'est pas fermée. La tête est toujours du côté du micropyle jusqu'à l'éclosion (pl. IV, fig. 16).

5° **Evolution du vitellus.** — Elle comprend deux stades : la formation des cellules vitellines et leur absorption par l'embryon. Au moment du traitement, l'œuf apparaît comme une sorte de syncytium, où les éléments cellulaires ne sont pas encore différenciés.

Vingt-quatre heures après le traitement, les éléments vitellins commencent à se différencier : on voit s'établir quelques membranes sphériques qui les limitent, et au centre des cellules sont des éléments nucléaires. Ces noyaux sont groupés par deux ou trois, et présentent souvent des divisions ; ils sont entourés de filaments rayonnants.

Dans un œuf au sixième jour après le traitement, une partie du vitellus se trouve comprise entre le prolongement amniotique et la face dorsale de l'embryon. Dans les stades ultérieurs, on ne trouve plus que des traces de noyaux (pl. IX, fig. 43). A partir de ce stade, les cellules vitellines dégénèrent : les membranes de séparation disparaissent progressivement.

Dans la cavité intestinale, les cellules vitellines qui s'y trouvent restent intactes. Ce n'est que lorsque l'embryon est bien développé et qu'il remplit toute la cavité de l'œuf, que les cellules vitellines intra-intestinales commencent à être digérées : les membranes, puis les globules et les noyaux disparaissent progressivement.

D. — COMPARAISON AVEC LE DEVELOPPEMENT NORMAL

Les œufs qui ont subi l'action de l'acide chlorhydrique pendant quatre minutes, vingt-quatre heures après la ponte, diffèrent des œufs normaux par leur aspect extérieur et par certaines particularités de leur développement.

1° *Aspect extérieur des œufs* : Les œufs traités s'aplatissent immédiatement après le traitement, puis reprennent leur turgescence cinq à dix minutes après la fin du traitement. Comme les œufs normaux, ils présentent toujours jusqu'à l'éclosion une faible dépression.

2° *Membrane d'activation* : Aussitôt après le traitement, on voit augmenter l'épaisseur de la membrane d'activation ; elle se colore par l'hématoxyline. Elle devient six à sept fois plus épaisse que celle des œufs non traités. Cette membrane d'activation semble provenir de l'élimination de substances de déchet de l'intérieur de l'œuf.

3° *Développement* : Les œufs traités ne présentent pas de stade de diapause. Le développement se poursuit progressivement et d'une façon continue. La bandelette germinative ne présente pas le stade hivernal des univoltins normaux, où elle est épaisse et rectiligne. Quarante-huit heures après le traitement, elle apparaît mince et allongée, légèrement plissée dans sa partie centrale. Une de ses extrémité est courbée en crosse vers le centre de l'œuf.

Cette bandelette a une longueur double de celle des univoltins non traités et de même âge ; son épaisseur est une fois moindre. Elle a même conformation et même structure que celle des races bivoltines. C'est par suite la forme caractéristique des développements rapides.

4° *Le vitellus* : Le vitellus ne présente dans ce cas pas de stade hivernal, c'est-à-dire qu'il n'est jamais entièrement contenu à l'intérieur des cellules vitellines bien différenciées. Il présente toujours des globules vitellins libres, en dehors de ceux contenus dans les cellules. Ici on observe que très peu de substances de déchet à l'intérieur de l'œuf, entre les éléments vitellins ; tandis que celles-ci sont abondantes dans les œufs de la même ponte, se développant normalement. Cette observation vient confirmer notre opinion que l'épaississement de la membrane d'activation s'est fait aux dépens de substances de déchet. Ces dernières paraissent inhiber le développement des œufs non traités, ainsi que l'ont déjà signalé BATAILLON et ROUBAUD.

5° *Changement de position* : Dans les œufs bivoltinisés, l'embryon se retourne complètement le septième jour après le traitement, soit huit jours après la ponte. Dans les œufs normaux, l'embryon subit son retournement au cinquième jour d'incubation.

6° *Eclosion* : Le jeune ver éclot douze à quinze jours après le traitement, c'est-à-dire treize à seize jours après la ponte. Trente-six jours après l'éclosion, les vers ont atteint leur maturité et fournissent 60 à 70 % de cocons riches en soie, de même forme et de même couleur que ceux des univoltins non traités.

Nos témoins ont éclos au dixième jour de l'incubation, soit dix mois après la ponte.

CHAPITRE IV

ÉTUDE DU DÉVELOPPEMENT DE L'ŒUF DE RACE UNIVOLTINE ACTIVÉ PAR UN TRAITEMENT COMBINÉ : FROID et ACIDE CHLORHYDRIQUE

A. — HISTORIQUE

L'hivernation artificielle des œufs de *Bombyx mori* a été expérimentée par GERA, BONAFOUS et MOESTRI (1839).

DUCLAUX (1859) a fait de nombreuses expériences sur cette action du froid et n'a eu des résultats positifs que pour les œufs ayant séjourné quarante jours à la glacière.

HAHERLANDT (1927) n'obtient l'éclosion d'œufs ayant séjourné vingt à trente jours dans la glacière à -2° F. que six mois après.

MASAKICHI HORI (1931) essaye de combiner l'action du froid et celle de la décharge électrique pour le développement des œufs de ver à soie. Il opère de deux façons :

1° *Action consécutive du froid et de la décharge électrique* : Cet auteur fait agir le froid, puis la décharge électrique, et met ensuite les œufs traités en incubation. Il opère de la façon suivante : les œufs sont gardés trente-six heures à la température de 35° C, puis à 0° C, pendant deux cents jours. Ils sont soumis à l'action de la décharge électrique durant trente minutes au moment où on les met à 0° C, puis ils sont enfin mis en incubation à la température de 40° C. Les univoltins éclosent en dix jours, les bivoltins en neuf jours.

2° *Action consécutive de la décharge électrique et du froid* : Dans d'autres expériences, l'auteur soumet les œufs d'abord à l'action de la décharge électrique, puis au froid de la façon suivante : les œufs sont placés à 40° C pendant trente-six heures, ils reçoivent ensuite la décharge électrique pendant trente minutes puis ils sont gardés pendant 18 heures à 40° C ; après ce traitement ils sont conservés à —4° C pendant cent jours et mis ensuite en incubation. Les univoltins éclosent en dix jours, les bivoltins en neuf jours.

TCHI-LON-CHE (1927) a conservé des œufs de ver à soie pendant deux mois à la glacière vingt jours après la ponte, puis, à la sortie de la glacière, ils sont mis en incubation à des températures croissantes. Il a obtenu de bons résultats : l'éclosion s'est faite comme après l'incubation du printemps.

Récemment, les nombreux laboratoires séricicoles et beaucoup de sériciculteurs de Chine ont obtenu des résultats intéressants avec des méthodes sembla-

bles cinq à six jours après la ponte, c'est-à-dire après la formation complète de la bandelette germinative, au début du stade de vie latente, les œufs sont mis à la glacière, où ils restent soixante à quatre-vingts jours. Puis ils sont mis en incubation dans la couveuse à une température croissante. L'éclosion se produit comme pour une incubation de printemps. Cette méthode est employée par les sériciculteurs de Chine et du Japon pour les élevages d'automne ou d'été des œufs de la même année.

L'examen du développement des œufs après cette hibernation précoce n'avait fait l'objet d'aucune étude détaillée.

Dans nos recherches embryologiques, nous avons combiné l'action de deux agents d'activation : l'acide chlorhydrique et le froid. Nous les avons fait agir l'un après l'autre.

Nous avons fixé les œufs de douze heures en douze heures après les deux traitements pour pouvoir étudier le développement de l'œuf après l'activation due à ces deux traitements successifs.

Nous examinerons quelle est l'influence du froid agissant après l'activation due à l'acide chlorhydrique.

Nous ne reviendrons pas sur l'historique ni sur les données générales du développement de l'embryon indiqués au chapitre précédent. Nous n'étudierons ici que les particularités dues à la bivoltinisation, observées d'après nos recherches personnelles.

B. — OBSERVATIONS SUR LE VIVANT

Les œufs ayant subi un premier traitement à l'acide chlorhydrique concentré pendant quatre minutes, vingt-quatre heures après la ponte, présentent un aplatissement remarquable, ainsi que nous l'avons déjà signalé au chapitre III, à propos de la bivoltinisation par l'acide chlorhydrique. Immédiatement après être sortis de l'acide chlorhydrique, les œufs sont mis à la glacière à -6° C pendant quarante-huit heures. Ils y conservent leur aspect flétri. Après la sortie de la glacière, les œufs se gonflent mais gardent une dépression sur leur deux faces, qui persistera jusqu'à l'éclosion. La teinte de l'œuf reste jaunâtre pendant le séjour à la glacière, alors que les témoins de même âge ont déjà viré au gris ; mais aussitôt après le traitement, les œufs viennent bruns, puis brun-gris (au deuxième jour), gris (au troisième jour), gris foncé (au quatrième jour). Cette couleur persiste jusqu'à la veille de l'éclosion.

Les jeunes vers commencent à éclore quatorze jours après le traitement, c'est-à-dire dix-sept jours après la ponte.

Trente-sept jours environ après leur éclosion, les vers fournissent 60 à 70 % de cocons riches en soie de même couleur et de même teinte que les cocons de races univoltines d'où ils proviennent.

Nous avons obtenu 95 % d'éclosion, c'est-à-dire les mêmes proportions que pour les œufs traités par l'acide chlorhydrique seul ; mais l'éclosion se fait avec un jour de retard sur ces derniers.

C. — ETUDE DU DEVELOPPEMENT

1° Examen des enveloppes : membrane d'activation.

— Nous observons que le chorion ne montre rien de particulier après le traitement, et qu'il se présente comme celui des œufs univoltins normaux. Il en est de même pour la membrane vitelline.

Après avoir traité des œufs de vingt-quatre heures par l'acide chlorhydrique pendant quatre minutes, c'est-à-dire des œufs où la bandelette germinative n'est pas encore formée, nous les avons soumis à l'action d'une température de -6° C pendant quarante-huit heures. Nous remarquons cependant que les œufs, après avoir subi le double traitement, présentent la membrane d'activation plus épaisse que ceux traités par l'acide chlorhydrique seul, il semble que le traitement par le froid provoque une nouvelle expulsion de matières de déchet qui vient s'ajouter à celle produite par l'acide chlorhydrique ; la membrane est sept à huit fois plus épaisse que la membrane d'activation des œufs témoins.

Cette membrane est directement sous la membrane vitelline, entre celle-ci et la membrane séreuse. Dans certains cas, cette membrane est largement épaissie au niveau de l'ébauche de la bandelette germinative et de la région micropylaire ; il arrive parfois que certaines cellules séreuses sont entraînées en quelque sorte par la viscosité de cette membrane jusqu'à la périphérie de celle-ci.

Dans cette membrane, vers la bandelette germina-

tive, on trouve de très petites granulations (pl. V, fig. 17).

Sur la coupe d'un œuf sorti depuis vingt-quatre heures de la glacière, la membrane d'activation a diminué, mais elle est toujours visible.

Autour d'une des extrémités de la bandelette, on trouve des déchets provenant de la digestion des cellules vitellines ; il en est de même au centre de l'œuf, entre les cellules vitellines, ainsi que dans les régions comprises entre la séreuse et l'amnios.

Quarante-huit heures après le traitement combiné, l'épaisseur de la membrane a encore diminué. Les déchets augmentent autour de l'embryon, on en trouve un peu entre l'amnios et l'embryon, et entre les cellules vitellines. Ils augmentent considérablement dans un œuf sorti depuis six jours de la glacière, surtout au centre de l'œuf et entre l'amnios et l'embryon. L'épaisseur de la membrane d'activation est très irrégulière, elle est presque nulle en certains points, et est très grande en d'autres.

Dans un œuf qui est sorti de la glacière depuis dix jours, les déchets continuent à s'accumuler entre l'embryon et l'amnios, du côté de la tête. La membrane d'activation est mince et légèrement ondulée.

Après quatorze jours, la membrane d'activation a presque complètement disparu. Cette membrane étant à l'état semi-liquide, se dessèche progressivement lorsque l'œuf est sorti de la glacière ; ceci explique sa diminution d'épaisseur chez des œufs de plus en plus âgés. Les déchets ne sont pas expulsés en masse pendant le développement de l'embryon ; ils ne s'agglom-

mèrent pas en couche. Comme leur expulsion a lieu lentement, ils vont s'accumuler à l'intérieur de l'œuf, au fur et à mesure de l'absorption des cellules vitellines par l'embryon.

Il semble donc qu'ici, comme dans les expériences précédentes, le froid n'a d'autre action que de provoquer un développement continu, mais très ralenti.

2° Formation de la bandelette. — Les œufs que nous avons mis à la glacière vingt-quatre heures après la ponte sont à un stade où aucun organe n'est encore formé. Nous constatons seulement que certaines cellules sont alignées en une bande irrégulière occupant un pôle de l'œuf, tandis que d'autres sont isolées ou groupées par deux ou trois. Les premières formeront la bandelette germinative : elles présentent des divisions nucléaires bien nettes (pl. VII, fig. 27). Les autres donneront la séreuse : elles ne présentent pas de divisions nucléaires. Dans l'intérieur de l'œuf se trouvent des globules de dimensions diverses et des noyaux épars.

Nous n'avons jamais observé que sous l'influence du froid il y ait un arrêt complet du développement avant complète formation de la bandelette germinative.

Après la sortie de la glacière, l'œuf continue à se développer sans arrêt, sans stade de diapause. La bandelette à peine formée n'est constituée que par deux couches épaisses de cellules cylindriques, à gros noyaux. Elle occupe les trois quarts de la longueur de l'œuf (pl. V, fig. 17).

Au sortir de la glacière, si l'on observe attentivement la bandelette germinative immédiatement après le traitement, on est frappé de la fréquence de mitoses dans les œufs soumis à l'action d'une basse température pendant quarante-huit heures. Nous figurons une portion de cette bandelette dans laquelle se voient nettement deux magnifiques anaphases, l'une étant un peu plus avancée que l'autre (pl. VIII, fig. 32).

Les centres et les asters de ces cinèses embryonnaires sont d'une netteté remarquable. D'ailleurs parmi les trois noyaux figurés, l'un renferme déjà des filaments chromatiques : c'est le début d'une prophase.

Dans le témoin de même âge, la bandelette germinative est formée de trois ou quatre couches de cellules cylindriques alternantes, pourvues de noyaux arrondis. La longueur de la bandelette est moindre que celle de la moitié de l'œuf.

Vingt-quatre heures après la sortie de la glacière, la bandelette s'est allongée et s'est enfoncée dans l'intérieur de l'œuf ; ses extrémités sont recourbées vers le centre. Les cellules sont plus petites que dans le stade précédent et disposées en trois ou quatre couches qui chevauchent plus ou moins. Les noyaux sont arrondis et ne sont pas au même niveau dans toutes les cellules ; ils présentent de nombreuses cinèses (pl. VIII, fig. 34). On voit sur la coupe (pl. V, fig. 2), entre les cellules vitellines, de nombreux noyaux analogues à ceux que présentent les cellules de la bandelette.

Quarante-huit heures après l'action de la glacière (pl. III, fig. 11), la bandelette très allongée présente de nombreux replis dans la partie médiane. Une de ses

extrémités est enroulée en crosse vers le centre. Elle a une longueur double de la bandelette d'œufs univoltins de même âge se développant normalement, et son épaisseur est deux fois moindre. Cette formation ne se rencontre pas dans les œufs hivernés artificiellement et se développant en automne. Elle rappelle un stade du développement des bivoltins de première génération (œufs de deux jours après la ponte) représentés dans la figure 21 A. Elle semble tout à fait caractéristique des œufs à développement rapide.

Le centre de la bandelette comprend trois ou quatre couches de cellules. Les extrémités sont plus épaisses ; celle qui se trouve dans la région du micropyle est effilée dans sa partie tout à fait terminale : elle formera la tête et ne quittera pas la région micropylaire. L'autre extrémité enroulée, est arrondie.

Six jours après le traitement (pl. V, fig. 19), les segments du corps de l'embryon sont ébauchés et les futures pattes sont visibles (trois paires de vraies pattes). L'intestin postérieur et l'intestin antérieur sont formés et proviennent d'une invagination ectodermique. Le côté postérieur avance légèrement vers le centre de l'œuf.

Les ganglions nerveux commencent à s'individualiser. Dix jours après le traitement par le froid, l'organisation de l'embryon est complètement établie (pl. V, fig. 20).

3° Formation des enveloppes embryonnaires : séreuse et amnios. — A) Amnios : Dans les œufs ayant subi le double traitement, la formation de l'amnios est retardée beaucoup plus que celle de la séreuse, parce

que la formation de l'amnios s'accorde avec celle de la bandelette germinative. L'amnios commence à apparaître quand la bandelette s'est formée et est déjà constituée de trois ou quatre couches de cellules cylindriques. Mais cette fois la formation de la bandelette est retardée sous l'influence de la basse température.

Douze heures après la sortie de la glacière, de grosses cellules assez distinctes s'établissent contre l'extérieur de la bandelette germinative, sur toute sa longueur. Leurs noyaux sont gros et arrondis, et leur protoplasme est clair.

La planche V, fig. 18, montre la formation de l'amnios à partir de ces grosses cellules sur le côté externe de la bandelette.

La partie protoplasmique de la future cellule amniotique est relativement faible. Dans un stade suivant, les cellules s'étirent, se rejoignent et les noyaux s'allongent. Ils présentent à l'intérieur de nombreux grains de chromatine (pl. VI, fig. 24).

Quarante-huit heures après le traitement, l'amnios est complètement formé. La forme de ses cellules ne varie plus jusqu'à l'éclosion. Il se distingue nettement des cellules de l'embryon.

Six jours après le traitement, l'amnios commence à s'allonger aux extrémités. Il présente les premières formations écailleuses ou en forme de poils que l'on retrouve ensuite.

Dix jours après le traitement, l'amnios enveloppe entièrement l'embryon qui est complètement formé.

B) *Séreuse* : Dans un œuf de vingt-quatre heures après la ponte — avant tout traitement — des cellules

isolées ou groupées par deux ou trois, entourées chacune d'une membrane particulière et disposées au pôle opposé à la bandelette germinative, représentent la première ébauche de la membrane séreuse (Pl. I, fig. 3). Elles renferment des noyaux arrondis. Ces cellules se différencient sur place. Elles sont d'abord globuleuses, puis s'allongent de plus en plus. La mise à la glacière n'empêche pas la formation de cette séreuse, qui s'étend même pendant ce séjour.

Après le traitement successif à l'acide chlorhydrique et au froid, la séreuse dans l'œuf sortant de la glacière est formée de cellules très aplaties, un peu plus épaisses au niveau des noyaux, mais non pigmentées.

Une partie de cette séreuse est entraînée par les courants d'expulsion des substances visqueuses de déchet, et se détache de l'enveloppe, comme on le voit à la planche V, fig. 17 ; on la trouve parfois projetée à l'extérieur de la membrane d'activation périphérique.

Dans un œuf de vingt-quatre heures après le traitement, la séreuse présente de nombreuses pigmentations violettes, comme celles des témoins. A ce moment elle est complètement achevée (pl. V, fig. 18) et ne subit plus de variations jusqu'à l'éclosion.

4° Evolution de la bandelette. — A) *Formation de l'embryon et de ses organes.*

Système nerveux : L'ébauche des ganglions nerveux commence à apparaître, six jours après le traitement, sous la forme de replis de l'ectoderme. Certaines cellu-

les de ces sillons vont se différencier en cellules nerveuses. Et le huitième jour, la double chaîne de ganglions est individualisée sur le côté ventral de l'embryon.

Au dixième jour (pl. V, fig. 20), on compte douze paires de ganglions ventraux et une paire de masses sus-œsophagiennes formant le cerveau. L'axe de la chaîne est constituée par des fibres nerveuses. Les cellules nerveuses sont petites et arrondies, en couches plus épaisses à la partie ventrale.

Organes génitaux : Ils commencent à apparaître huit jours après le traitement, c'est-à-dire onze jours après la ponte. Sur une coupe d'œuf au dixième jour après le traitement, on les voit nettement, formés de cellules arrondies entourant une masse claire. On observe le canal éjaculateur (pl. V, fig. 20).

Cellules trichogènes : Elles apparaissent neuf jours après le traitement. Ce sont de grosses cellules de l'épithélium dorsal. Elles sont groupées par deux ou trois. Elles ont une forme cubique et un noyau arrondi. Ces amas sont bordés du côté interne par de très petites cellules.

Sur la coupe d'un œuf au dixième jour après le traitement (pl. V, fig. 20), on observe ces cellules trichogènes réparties régulièrement sur toute la longueur de l'épithélium dorsal de l'embryon. Ces cellules donnent naissance à des productions en forme de poils, qui sont des prolongements cellulaires.

Tube digestif : L'intestin antérieur est postérieur se forme par invaginations ectodermiques visibles sur un œuf de neuf jours, soit six jours après le traitement.

La formation du tube digestif a lieu de la même façon que chez les œufs bivoltinisés sous l'action de l'acide chlorhydrique seul.

Dix jours après le traitement (pl. V, fig. 20), le tube digestif est complètement formé. La paroi ne présente pas encore de cellules cylindriques, elle n'est constituée que de cellules arrondies disposées en deux ou trois couches.

B) *Changement de position de l'embryon.*

Le changement de position se produit de huit à neuf jours après le traitement. Au sixième jour, on distingue très nettement le côté ventral de l'embryon à cause de la présence de l'ébauche des pattes (pl. V, fig. 19).

Cette face ventrale se trouve contre la coque de l'œuf, la face dorsale étant vers l'intérieur de l'œuf.

Au huitième ou neuvième jour, l'embryon se retourne, et sa face dorsale est appliquée contre l'œuf. Mais la tête reste toujours dans la région du micropyle.

5° Evolution du vitellus. — L'évolution du vitellus des œufs univoltins bivoltinisés comprend deux stades :

1° La formation des cellules vitellines ;

2° L'absorption de ces cellules par l'embryon.

Des œufs âgés de soixante-deux heures et ayant séjourné quarante-huit heures dans la glacière présentent une masse vitelline composée de globules vitellins,

plus ou moins arrondis et de dimensions assez irrégulières, répartis dans toute la masse, et entre lesquels sont de gros noyaux sans prolongements ramifiés. Les noyaux présentent fréquemment des phénomènes de caryokinèse. Ils sont parfois groupés par deux ou trois.

Dans un œuf de quatre jours après la ponte, soit vingt-quatre heures après le traitement par l'acide chlorhydrique et le froid, les cellules vitellines commencent à s'individualiser (pl. VIII, fig. 37). Les globules sont groupés autour des noyaux. Ceux-ci présentent des ramifications en réseau de chromatine, et l'on y distingue parfois des figures de caryokinèse. D'autres sont encore au stade précédent. Des membranes délimitent ces éléments vitellins, de telle sorte qu'il y a individualisation des « cellules vitellines ».

Quarante-huit heures après le traitement à la glace (œuf de cinq jours), les œufs contiennent des cellules vitellines irrégulières (pl. VIII, fig. 33). On ne trouve jamais de cellules régulièrement sphériques, comme chez les univoltins normaux au stade de diapause.

La deuxième phase de l'évolution du vitellus, c'est-à-dire l'absorption des cellules vitellines (pl. VII, fig. 6), commence aussi dans cet œuf.

A partir de ce stade, on voit des éléments vitellins dégénérer : les globules sont digérés et il ne reste plus que des vestiges de substance vitelline au lieu d'une substance granuleuse.

Dans un œuf de dix jours après le traitement (pl. V, fig. 20), beaucoup de cellules vitellines ont été absor-

bées par l'embryon et il n'en reste plus que des traces, que nous considérons comme des produits de déchet. On observe aussi des traces irrégulières des membranes de ces cellules vitellines, et des vestiges de noyaux sous forme d'amas chromatiques.

A partir de ce stade, les prolongements amniotiques ont englobé entre eux et la face ventrale de l'embryon une certaine quantité de cellules vitellines.

Dix jours après le traitement, les organes embryonnaires sont formés, et l'embryon occupe la plus grande partie de l'œuf. Les cellules vitellines enfermées dans la cavité intestinale commencent à être digérées : on y trouve encore des noyaux. Tandis que les cellules vitellines de l'extérieur de l'embryon sont complètement désorganisées et ne présentent plus que des traces de chromatine.

D. — COMPARAISON

AVEC LE DEVELOPPEMENT NORMAL

Les œufs univoltins de *Bombyx mori*, bivoltinisés par un traitement à l'acide chlorhydrique concentré pendant quatre minutes, suivi de l'action du froid à -6° C pendant quarante-huit heures, ceci vingt-quatre heures après la ponte, diffèrent des œufs normaux par leur aspect extérieur et par certaines particularités de leur développement.

1° *Aspect extérieur des œufs* : Les œufs gardent leur couleur jaunâtre jusqu'à la sortie de la glacière,

alors que les œufs témoins sont gris-brun. Cette absence de variation de couleur correspond à un ralentissement de développement dû à l'action du froid.

Les œufs à la glacière conservent l'aspect flétri que leur a donné le traitement par l'acide chlorhydrique.

Après la sortie de la glacière, les œufs ont de nouveau des faces bombées, mais avec une légère dépression centrale, comme celle que présentent les témoins.

2° *Membrane d'activation* : Après le double traitement consécutif à l'acide chlorhydrique et au froid, la membrane d'activation des œufs est un peu plus épaisse que celle des œufs traités par l'acide chlorhydrique seul, et sept à huit fois plus épaisse que celle des univoltins.

3° *Membrane séreuse* : Au moment de la mise à la glacière, la membrane séreuse n'est pas formée, ses éléments sont encore à l'état de cellules isolées ou groupées par deux ou trois et situées à la périphérie de l'œuf.

A la sortie de la glacière, la membrane séreuse est formée. Les cellules se sont réunies par leurs prolongements protoplasmiques et ont formé une enveloppe continue. Cette séreuse n'est pas encore pigmentée. Du côté du micropyle, nous la voyons rejetée au delà de la membrane d'activation par les courants de substance de déchets éliminés de l'œuf.

Nous n'avons jamais observé dans les autres cas — bivoltins ou univoltins bivoltinisés par l'acide chlorhydrique seul — un phénomène d'expulsion aussi intense entraînant une aussi grande déformation de la séreuse.

La formation de l'amnios est retardée par l'abaissement de la température ; elle commence vingt-quatre heures après la sortie de la glacière.

Dans les œufs univoltins, l'amnios, la bandelette germinative, la séreuse paraissent se former en même temps.

4° *Développement de l'embryon* : Au moment de la mise à la glacière, le blastoderme s'organise ; l'œuf est encore au stade de syncytium.

Après le traitement, le blastoderme est formé à l'un des pôles de l'œuf, par deux couches de cellules cylindriques à noyaux arrondis. La membrane séreuse est formée.

Les œufs témoins du même âge présentent une bandelette germinative de trois ou quatre couches de cellules cylindriques, chevauchant plus ou moins et montrant des divisions nucléaires.

Tandis que le développement des témoins s'arrête après la formation de la bandelette pour entrer dans la phase de repos, celui des œufs traités se continue sans présenter de stade de diapause.

La bandelette est longue et mince quarante-huit heures après la sortie de la glacière ; elle a même allure et même structure que celles des univoltins traités par l'acide chlorhydrique seul. Mais ce développement parallèle se fait avec deux jours de retard chez les œufs traités par l'acide chlorhydrique et le froid.

5° *Vitellus* : Le vitellus ne présente pas les caractères observés dans le stade hivernal, c'est-à-dire

qu'il ne se différencie jamais complètement en cellules vitellines, comme on l'observe dans les œufs témoins. On voit seulement la formation de quelques-unes de ces cellules vitellines vingt-quatre heures après le traitement

6° *Changement de position* : L'embryon des œufs traités se retourne vers le huitième ou neuvième jour après la sortie de la glacière. Dans les œufs témoins, l'embryon change de position au cinquième jour d'incubation.

7° *Éclosions* : Les vers éclosent quatorze à seize jours après le traitement, c'est-à-dire dix-sept jours après la ponte. Nous avons obtenu 95 % d'éclosion ; trente-sept jours environ après l'éclosion, les vers ont fourni 60 à 70 % de cocons riches en soie de même forme et de même couleur que ceux des univoltins témoins. Les témoins ont éclos au dixième jour de l'incubation, ce qui correspond à quinze jours de développement actif — comme chez les œufs traités — mais interrompus dans le premier cas par dix mois de diapause.

Chez les œufs témoins, il y a après la formation de la bandelette une interruption de développement de dix mois correspondant à la diapause.

CHAPITRE V

ÉTUDE DU DÉVELOPPEMENT DE L'ŒUF DE RACE BIVOLTINE DE PREMIÈRE GÉNÉRATION

A. — HISTORIQUE

Les œufs bivoltins de première génération ont été étudiés par différents auteurs :

ANNA FOA (1927) admet l'opinion de ROUBAUD (1922) que la « diapause » embryonnaire serait due à une intoxication par les produits de déchets. Cet auteur remarque :

1° Que l'œuf des bivoltins et polyvoltins contient une plus petite quantité de protoplasme que celui des univoltins. L'embryon en diapause de ces derniers présente des cellules et des noyaux plus gros que chez les bivoltins et polyvoltins.

2° Que l'œuf des bivoltins et polyvoltins atteint la maturité avec un plus petit nombre de cellules que celui des univoltins.

ANNA FOA distingue le bivoltisme somatique dé-

terminé par des facteurs du milieu et le bivoltinisme germinatif qui, lui, présente un caractère héréditaire.

Cet auteur note aussi l'influence favorable des basses températures sur le bivoltinisme. Il en donne l'explication par le fait que la température agit sur la grandeur des cellules, comme différents auteurs l'ont montré soit chez les infusoires, soit dans le développement d'un oursin, le *Strongylocentrotus lividus*.

CARLO JUCCI (1930) considère le bivoltinisme comme un caractère héréditaire. Cet auteur prétend arriver à conserver, par des croisements et un élevage approprié, ce caractère de bivoltinisme comme caractère dominant.

LÉCAILLON étudie expérimentalement la reproduction et le développement des bivoltins apparus accidentellement dans une ponte d'univoltins. Il constate que les *Bombyx mori* bivoltins ont deux catégories d'œufs différents de teinte et que l'on peut qualifier d'œufs d'été et d'œufs d'hiver.

Les premiers éclosent dix jours après la ponte.

Les seconds hivernent et éclosent au printemps.

Les bivoltins accidentels ne transmettent pas à tous leurs descendants leur aptitude à donner alternativement des œufs d'hiver et des œufs d'été. « Ce caractère de bivoltinisme n'est pas une mutation au sens que DE VRIÈS donne à ce mot ».

Récemment, KAO TCHIOU-CHI (1927) suivant les méthodes de TICHOMIROFF, dissèque les œufs de bivoltins naturels et isole les embryons pour en étudier le développement. Mais nous n'avons pas vu dans son travail de coupes en série pour l'étude cytologique de ces

embryons. Nous avons parfois constaté quelques différences entre ses dessins et les nôtres.

BATAILLON et TCHOU-SU (1931) ont observé dans la généralité des cas, l'élimination d'un globule polaire chez le bivoltin de première génération de *Bombyx mori*. Cette expulsion est spontanée. Les bivoltins de deuxième génération retiennent leur globule polaire et ne l'éliminent que sous l'action d'un traitement polyvoltinisant.

Nous avons étudié spécialement les bivoltins de première génération et le développement normal de leurs œufs, afin de le comparer avec celui des œufs univoltins bivoltinisés soit par l'acide chlorhydrique pendant quatre minutes, soit par l'acide chlorhydrique et un froid de -6° pendant quarante-huit heures.

En réalité, il n'y a pas de distinction bien marquée entre les races univoltines et les races bivoltines ; la différence est souvent due à l'action de facteurs externes et surtout climatiques.

Les œufs de vers à soie sont très sensibles aux variations de température, en raison surtout de leur taille.

Les œufs bivoltins de première génération (d'après les travaux de KAO-TCHIOU-CHI) sont de plus petite taille, contiennent une plus petite quantité de protoplasme, présentent une plus grande surface, sont moins lourds que ceux de la deuxième génération ; de ce fait, ils renferment moins de substances de déchet au cours de leur développement. La chaleur de l'été est suffisante pour faire varier la pression osmotique à l'intérieur de ces œufs, tandis qu'en

même temps s'élimine de petites quantités de substance de déchet.

L'œuf, ainsi activé, achève son développement très rapidement, neuf à dix jours après la ponte.

Pour la deuxième génération de bivoltins, la chaleur n'est pas assez forte pour produire le même effet. Les déchets se maintiennent dans l'œuf, ce qui entraîne un stade de diapause (comme l'a fait remarquer ROUBAUD), pendant lequel s'élimine une certaine quantité de déchets toxiques. Après cette élimination, l'œuf pourra se développer sans arrêt:

Tous les sériciculteurs savent que les races polyvoltines ou bivoltines transportées dans un endroit froid deviennent bivoltines ou univoltines. Les races univoltines transportées dans un endroit chaud deviennent bivoltines.

MM. LAMBERT et MAILLOT ont remarqué que la première génération des bivoltins se produit naturellement sous l'action de la chaleur du soleil d'été. L'action de cet agent de bivoltinisme est facile à comprendre : la chaleur fait varier la pression osmotique à l'intérieur de l'œuf et amène l'expulsion de substances de déchet ; après la sortie de ces substances, le développement est activé et permet l'éclosion rapide. Dans un milieu chaud et favorable, l'expulsion des éléments de déchet des cellules de l'œuf provoque le polyvoltinisme.

Mais, à chaque génération, les œufs deviennent de plus en plus lourds, jusqu'à un certain maximum. Les œufs de cette génération passent par un stade de diapause avant d'achever leur développement.

C'est ainsi que chez des polyvoltins donnant trois générations par an, la troisième génération donne des œufs plus lourds que les deux précédentes, mais qui ne se développent qu'après avoir passé par le stade hivernal de repos.

B. — OBSERVATIONS SUR LE VIVANT

Les œufs bivoltins naturels de première génération sont ovoïdes, plus petits que les œufs univoltins. Ils présentent un léger aplatissement dû à une déshydratation, quelques heures après la ponte.

Ils gardent leur teinte jaunâtre jusqu'au neuvième jour après la ponte, puis présentent une tache grise dans la région micropylaire. La couleur grisâtre s'unifie, et c'est à ce moment que le jeune ver éclot. Cette teinte n'est pas due à une pigmentation de la séreuse, mais à la teinte du ver lui-même qui, ayant mangé l'amnios, apparaît à travers la coque. La destruction de l'amnios commençant dans la région du micropyle, c'est là que la teinte grise apparaît d'abord. Ceci confirme les opinions de LAMBERT et MAILLOT, ainsi que de P. VIEL.

C. — ETUDE DU DEVELOPPEMENT

1° Examen des enveloppes : chorion et membrane d'activation. — Nous avons fait une étude du développement des œufs de *Bombyx mori* bivoltins de première génération. Nous avons fixé des œufs tous les

jours, depuis la ponte jusqu'à l'éclosion. Nous retiendrons seulement trois stades intéressants parmi les nombreuses coupes en série que nous avons établies.

Une coupe faite dans un œuf de deux jours après la ponte (pl. VI, fig. 21), présente une membrane d'activation ondulée, située entre la membrane séreuse et la membrane vitelline, et dans laquelle on voit de très petites granulations éparses. Ces mêmes petites granulations existent à l'intérieur de l'œuf ; de part et d'autre dans la séreuse, on remarque la même substance visqueuse (pl. IX, fig. 40). La membrane d'activation est trois à quatre fois moins épaisse que chez les œufs univoltins bivoltinisés par l'acide chlorhydrique. Les œufs bivoltins étant plus petits que les univoltins bivoltinisés, renferment naturellement moins de substances de déchet à expulser, qui forment une couche extérieure moins épaisse. La membrane d'activation des univoltins n'est formée que par l'expulsion des déchets à la suite de la pénétration du spermatozoïde. Cette action est faible, l'expulsion est incomplète, et la membrane extérieure est peu épaisse. Ces œufs s'arrêtent au stade de la bandelette germinative.

Dans un œuf de quatre jours après la ponte (pl. VI, fig. 22), cette membrane d'activation devient moins visible. La séreuse est toujours un peu déformée par la pression des substances de déchet qui sortent de l'œuf. La membrane d'activation externe non protégée disparaît rapidement sous l'influence de la chaleur. A l'intérieur de l'œuf, entre l'embryon et l'amnios, existe en grande quantité une substance rappelant celle qui est expulsée.

L'œuf de six jours (pl. VI, fig. 23), ne présente presque pas de membrane d'activation visible. Mais les déformations de la membrane séreuse témoignent que les courants d'expulsion continuent jusqu'à l'éclosion.

La substance visqueuse est la même entre l'embryon et la séreuse, l'amnios et l'embryon, au centre du vitellus, où des cellules vitellines sont digérées, produisent également une substance de déchet.

Il semble qu'on puisse expliquer le bivoltinisme de l'une des deux façons suivantes :

1° D'après les travaux de KAO TCHIOU-CHI, les œufs bivoltins ou polyvoltins sont plus petits et moins lourds que les univoltins de n'importe quelle race, ils renferment moins de substances toxiques ; celles-ci sont facilement éliminées sous l'influence de la chaleur d'été. On sait que les races bivoltines transportées dans un pays froid deviennent univoltines, et inversement que les races univoltines transportées dans un pays chaud deviennent bivoltines.

2° D'après nos coupes en série décrites précédemment, la cause déterminante du développement rapide et de l'éclosion des bivoltins est l'expulsion des éléments de déchet par suite des phénomènes osmotiques se produisant sous l'influence de la chaleur estivale.

2° Formation de la bandelette. — Les œufs naturellement bivoltins se développent beaucoup plus vite que les œufs bivoltinisés et que les œufs univoltins.

Dans une coupe d'œuf au deuxième jour après la ponte (pl. VI, fig. 21), l'embryon occupe les trois quarts de la surface intérieure de l'œuf. Il présente un stade correspondant à celui des œufs bivoltinisés, quarante-huit heures après le traitement par l'acide chlorhydrique, c'est-à-dire trois jours après la ponte. L'embryon est long et mince, présente de nombreux replis et l'extrémité postérieure recourbée vers le centre. Il est formé de deux ou trois couches de cellules cylindriques à noyaux arrondis, qui présentent des figures de karyokinèse (pl. IX, fig. 40). L'extrémité postérieure est plus épaisse. L'extrémité antérieure, près du micropyle, forme la tête ; elle s'accroît moins vite que l'autre extrémité et ne présente pas encore de courbure.

Quatre jours après la ponte, l'embryon est complètement formé (pl. VI, fig. 22) et tous les organes sont constitués. Il occupe presque tout l'œuf. L'embryon d'un œuf de six jours (pl. VI, fig. 23) est encore plus gros, et ses extrémités arrivent à se toucher, enserrant très peu de vitellus. Ce stade précède de deux jours l'éclosion.

3° Formation des enveloppes embryonnaires : séreuse et amnios. — A) *Séreuse* : Les œufs bivoltins gardent leur couleur jaune pâle à l'extérieur jusqu'à la veille de l'éclosion. Nous avons examiné, dans nos coupes, la formation de la membrane séreuse et nous n'y avons pas trouvé de variation dans la pigmentation. Les pigments violets des univoltins n'existent pas ici.

La figure 25 A représente un fragment de membrane séreuse deux jours après la ponte. Elle est complète-

ment formée, les noyaux sont allongés, très écartés les uns des autres et assez irrégulièrement disposés. La membrane est ondulée et déformée, comme nous l'avons signalé, sous l'influence de courants centrifuges dus aux substances semi-fluides expulsées. On trouve dans les noyaux quelques granulations de chromatine colorée en noir par l'hématoxyline.

Dans un œuf de quatre jours, la cellule séreuse est plus mince et toujours un peu déformée sous l'influence des substances qui sortent de l'œuf (pl. VI, fig. 25 B). Le protoplasme des cellules est réduit et les noyaux sont devenus plus allongés ; ils renferment les mêmes granulations que précédemment, et la membrane a toujours sa forme ondulée.

Six jours après la ponte, la chromatine des noyaux n'a pas varié, mais ceux-ci paraissent plus allongés et le protoplasme est encore plus réduit qu'aux stades antérieurs (pl. VI, fig. 25 C).

A aucun moment jusqu'à ce stade, nous n'avons observé de pigments dans le protoplasme, ce qui explique la constance de la teinte jaune pâle des œufs bivoltins. La teinte grisâtre que prend l'œuf au moment de l'éclosion n'est pas due à une pigmentation de la séreuse, mais au fait que l'embryon mange l'amnios et qu'il est vu à travers la coque transparente.

B). *Amnios* : Quant à l'amnios, il se forme en même temps que la séreuse. Dans un œuf de deux jours, ses cellules sont complètement formées (pl. VI, fig. 2). Il recouvre la face ventrale de l'embryon et s'attache à ses deux extrémités. Il ne suit pas tous les replis de l'embryon, il s'en détache et n'est que légè-

ment ondulé. Les cellules sont longues et minces, avec des noyaux allongés renfermant la chromatine.

L'amnios est plus mince que la séreuse (pl. IX, fig. 40).

Dans un œuf de quatre jours, l'amnios entoure complètement l'embryon, dont il est séparé par une substance de déchet, surtout abondante aux extrémités. Il a une forme ondulée due probablement aux courants de substances expulsées. Cette forme s'accroît chez un embryon de six jours (pl. VI, fig. 23) et les ondulations correspondent aux régions où les déchets sont abondants. Les cellules de l'amnios ne varient pas de structure depuis leur formation jusqu'à l'éclosion de l'embryon. Nous remarquons ici aussi la constitution de prolongements écailleux.

4° Evolution de la bandelette. — A) *Formation de l'embryon et de ses organes.* — *Système nerveux :* Dans la coupe faite quatre jours après la ponte (pl. IV, fig. 22), la chaîne nerveuse est complètement formée. Elle est constituée de douze paires de ganglions ventraux, et du cerveau situé au dessus de l'œsophage. Les cellules nerveuses renferment des noyaux arrondis ; elles se groupent dans les replis du corps à la face ventrale et forment ainsi les masses ganglionnaires. C'est là la forme définitive de la chaîne nerveuse de l'embryon.

Organes génitaux : Ils sont déjà visibles dans l'embryon de quatre jours. Pour leur formation, nous n'avons rien observé qui diffère des œufs univoltins et autres dont nous avons déjà parlé.

Cellules trichogènes : On les observe nettement dans l'embryon de quatre jours (pl. VI, fig. 22). Ce sont de grosses cellules groupées par deux ou trois, et invaginées dans l'ectoderme. Dans un œuf de six jours (pl. VI, fig. 23), on les voit au fond des replis ectodermiques dirigés d'avant à arrière. A ce stade, elle n'ont pas encore poussé de proliférations en forme de poils.

Tube digestif : Il est complètement formé quatre jours après la ponte et sa paroi est constituée de deux ou trois couches de cellules arrondies. Dans l'embryon de six jours, on trouve des cellules cylindriques et des cellules arrondies et la paroi est plus épaisse qu'aux stades précédents. La formation du proctodeum et du stomodeum n'offre rien de particulier.

B) *Changement de position de l'embryon* : Trois jours après la ponte, l'embryon se retourne : sa face ventrale qui était tournée du côté externe regarde alors l'intérieur de l'œuf. Dans l'œuf de quatre jours (pl. VI, fig. 22), et dans celui de six jours (pl. VI, fig. 23), on voit que la tête de l'embryon reste près du micropyle et cela jusqu'à l'éclosion. Nous avons vu précédemment avec plus de détails l'explication de ce changement de position.

5° *Evolution du vitellus*. — Les cellules vitellines des œufs bivoltins de première génération présentent une forme irrégulière. L'embryon se développant rapidement les absorbe de bonne heure ; dans la coupe faite d'un œuf au deuxième jour après la ponte, on observe

quelques cellules complètes avec leurs éléments nucléaires en grosses masses (pl. IX, fig. 41), renfermant un réseau de chromatine. La plupart des cellules sont désagrégées. Les globules vitellins sont les uns très gros, les autres très petits et très arrondis, moins serrés que chez les œufs précédemment étudiés. Dans un œuf de quatre jours (pl. VI, fig. 23), une partie des cellules vitellines est incluse dans l'intestin. Là, et à l'extérieur de l'embryon, les cellules vitellines sont digérées : il n'en reste plus que des globules irréguliers et de rares noyaux en voie de disparition (pl. IX, fig. 22), groupés en trois petites masses entourées d'un réseau de substances granuleuses.

Dans l'œuf de six jours, il n'y en a plus trace. Les globules eux-mêmes commencent à disparaître et au centre de l'œuf s'accumule la substance visqueuse de déchet (pl. IX, fig. 23).

L'origine du vitellus dans la cavité intestinale de l'embryon a été étudiée au chapitre premier.

D. — COMPARAISON

AVEC LE DEVELOPPEMENT NORMAL

1° *Aspect extérieur.* — Les œufs de bivoltins naturels sont plus petits que les œufs d'univoltins. Ils présentent un léger aplatissement quelques heures après la ponte. Ils gardent leur teinte jaunâtre jusqu'à la veille de l'éclosion (neuf jours après la ponte). Puis une tache grisâtre apparaît vers le micropyle et s'étend à tout l'œuf au moment de l'éclosion. Les témoins

changent de couleur un jour après la ponte, deviennent brun, brun-gris, puis gris foncé et gardent cette teinte pendant la diapause jusqu'à la veille de l'éclosion.

2° *Membrane d'activation.* — La membrane d'activation est trois à quatre fois plus épaisse que chez les univoltins. Elle est irrégulière, plus épaisse du côté du micropyle et du côté de la bandelette ; dans ces régions, on trouve de petits granules vitellins qui semblent avoir été entraînés par les courants d'expulsion. Cette membrane disparaît rapidement : quatre jours après la ponte on n'en trouve plus qu'une trace.

3° *Membrane séreuse.* — La membrane séreuse est déformée par les courants d'expulsion, et présente une série d'ondulations. Nous n'avons jamais observé les pigments violets que présente la séreuse des univoltins. La séreuse des bivoltins est une fois plus mince que celle des univoltins et les noyaux sont deux fois plus allongés.

4° *Développement.* — Le développement des bivoltins naturels est plus rapide que celui des univoltins même traités. La bandelette germinative, formée deux jours après la ponte, est allongée, très mince comme celle des œufs bivoltinisés, ce que l'on ne trouve jamais chez les univoltins. La formation des organes est très rapide : quatre jours après la ponte, l'embryon est entièrement édifié. L'embryon des univoltins est formé au sixième jour de l'incubation.

5° *Changement de position.* — Trois jours après la ponte, l'embryon est retourné. L'embryon des œufs univoltins change de position au cinquième jour d'incubation.

6° *Éclosion.* — L'éclosion se fait dix à onze jours après la ponte. 30 jours après l'éclosion, les vers filent leurs cocons dont le volume est plus petit que celui des univoltins.

CONCLUSIONS

EXAMEN COMPARATIF DES RESULTATS OBSERVES. — HYPOTHESES SUR L'ACTION DES DIFFERENTS AGENTS ACTIVANTS OU BIVOLTINISANTS.

Chez le *Bombyx mori*, le bivoltinisme et les méthodes de bivoltinisation sont connus depuis très longtemps, mais l'influence des facteurs bivoltinisants sur la morphologie et la physiologie du développement de l'œuf a été peu étudiée. C'est en vue d'élucider cette action que nous avons tout d'abord comparé les œufs fécondés et les œufs non fécondés. Puis nous avons fait une étude comparative du développement normal d'œuf de race univoltine et de race bivoltine, ainsi que d'œufs univoltins bivoltinisés à la suite d'un traitement, soit par l'acide chlorhydrique seul, soit combiné avec le froid. Cette série de comparaisons nous permet d'établir les conclusions suivantes :

1° Les œufs univoltins non fécondés de *Bombyx mori* n'ayant subi aucun traitement ne se développent pas, gardent leur couleur jaunâtre, et se dessè-

chent quelque temps après la ponte. Dans des coupes faites immédiatement après la ponte, les œufs ne présentent sous le chorion qu'une membrane vitelline, mais pas de membrane d'activation, ainsi que BATAILLON et TCHOU-SU (1930) l'avaient déjà signalé.

2° *Les œufs univoltins fécondés de Bombyx mori* changent de couleur ; ils passent du jaune-brun au brun-foncé, puis deviennent grisâtres et gris-foncé.

Dans une coupe faite immédiatement après la ponte, nous avons vu, à la périphérie de l'œuf, entre la membrane vitelline et le chorion, une pellicule de substance claire. Elle existe dans les œufs fécondés de tous les insectes : c'est la membrane d'activation ou de fécondation signalée par différents auteurs. Elle se produit au moment où le spermatozoïde pénétrant dans l'œuf y provoque une activation qui se traduit extérieurement, comme l'indique BATAILLON, par l'expulsion de substances de déchet plus ou moins toxiques et à action inhibitrice sur le développement. La membrane de fécondation disparaît partiellement pendant l'hivernation. L'expulsion de substances de déchet est lente pendant la diapause, et est très peu abondante. Elle est plus considérable au début de l'incubation, où elle se traduit par l'augmentation en certains points de la membrane d'activation.

Le développement normal de ces œufs univoltins subit un premier arrêt après la formation de la bandelette germinative, soit quatre à cinq jours après la ponte. Ils entrent alors dans un stade de diapause, dont la cause serait surtout, d'après l'hypothèse de

ROUBAUD (1922) sur laquelle nous revenons plus loin, le résultat d'une intoxication due à l'accumulation de produits de déchet.

Après une longue épuration amenant le rejet de ces déchets, un traitement activant comme celui de la chaleur du printemps ou de la couveuse provoque un développement rapide et l'éclosion après douze jours d'incubation.

Ainsi deux séries d'agents activants interviennent au cours du développement normal de ces univoltins : le premier, c'est le spermatozoïde ; le deuxième facteur activant est la chaleur du printemps ou de la couveuse. Ces divers agents, ainsi que le froid de l'hiver, vont provoquer des modifications à l'intérieur de l'œuf, notamment des variations de pression osmotique au cours desquelles se produit l'expulsion de déchets qui va permettre le développement de l'embryon. Ce développement a lieu en deux étapes : l'une aboutissant à la formation de la bandelette germinative, l'autre amenant le développement de cette bandelette en un embryon complet. Entre ces deux périodes évolutives, l'œuf reste en période latente pendant neuf mois environ. Cette période de repos ou de diapause peut être supprimée par un traitement bivoltinisant.

3° *Les œufs de race univoltine* et âgés de vingt-quatre heures, traités par l'acide chlorhydrique concentré pendant quatre minutes, se développent d'une façon continue et rapide sans qu'il y ait de diapause. Douze à quinze jours après le traitement par l'acide chlorhydrique, nous avons obtenu 90 % d'éclosion,

et trente-six jours après, les vers élevés dans de bonnes conditions, ont fourni de 60 à 70 % de cocons riches en soie.

Les œufs traités par l'acide chlorhydrique présentent un aplatissement marqué qui apparaît peu de temps après le traitement et ne se maintient que pendant une dizaine de minutes, après quoi il disparaît en partie. Il est dû à une déshydratation à la suite de l'action cytolysante de l'acide.

Nous avons étudié l'influence de cet agent bivoltinisateur sur le développement, en comparant à différents stades jusqu'à l'éclosion, des œufs traités et des œufs normaux témoins. Les coupes d'œufs traités faites immédiatement après le traitement nous montrent une membrane d'enveloppe très épaisse placée sous l'ensemble du chorion et de la membrane vitelline. Cette « membrane d'activation » est six à sept fois plus épaisse dans les œufs traités que la membrane de fécondation des œufs univoltins, et trois à quatre fois plus épaisse que la même membrane dans les œufs bivoltins de première génération.

Elle est irrégulière, plus dilatée au niveau du micropyle et au pôle où se tient l'embryon.

Cette membrane d'activation paraît être constituée aux dépens de produits de déchet expulsés de l'œuf, sous l'action de l'acide chlorhydrique. A l'intérieur de l'œuf, il semble que la formation de la substance constituant la membrane a lieu aux points où les cellules vitellines sont digérées par l'embryon. Les résidus de cette digestion sont formés d'une substance claire, granuleuse, renfermant parfois quelques restes de glo-

bules vitellins et forment des plages caractéristiques, qui se localisent à l'intérieur de l'œuf.

Ces substances de déchets sont surtout abondantes aux points où l'activité de l'embryon est la plus grande, c'est-à-dire où l'absorption du vitellus est la plus considérable.

Les œufs bivoltinisés présentent un stade de bandelette germinative bien caractérisé ; celle-ci apparaît quarante-huit heures après le traitement, sous la forme d'une bandelette longue et mince, occupant les trois quarts du pourtour de l'œuf, et formée de deux à trois couches de cellules superposées. Nous retrouvons un stade semblable de bandelette allongée et étirée dans le développement des œufs bivoltins de première génération deux jours après la ponte. Cette formation de bandelette étirée est par suite caractéristique des développements continus, sans stade de repos.

L'acide chlorhydrique a donc eu pour effet d'assurer le développement continu et rapide de l'embryon sans qu'il y ait de stade de diapause. L'apparition d'une épaisse membrane d'activation après son action semble indiquer qu'il y a eu épuration de l'œuf, comme l'admet BATAILLON, avec expulsion de produits de déchet qui, probablement par intoxication, empêchaient le développement de l'œuf.

1° *Les œufs fécondés de race univoltine traités par l'acide chlorhydrique pendant quatre minutes et mis à la glacière à la température de -6° C, pendant quarante-huit heures, présentent peu de différence avec ceux traités seulement par l'acide chlorhydrique ; leur développement est un peu plus lent et ils présentent*

une membrane d'activation un peu plus épaisse. Il semble que sous l'influence de ce double traitement, les substances de déchet ont été expulsées avec plus d'intensité, ce qui se traduit par un épaissement plus accentué de la membrane d'activation.

Au moment de la mise à la glacière, l'œuf est une sorte de syncytium avec un blastoderme formé à un pôle dont les cellules présentent des divisions nucléaires ; et sur le pourtour de la masse vitelline, on voit se former, isolément ou par groupes de deux ou trois, des cellules, premières ébauches de la membrane séreuse.

La masse vitelline est constituée de globules vitellins et de noyaux épars.

Après un traitement de quarante-huit heures à la glacière, la membrane séreuse est formée, mais non encore pigmentée. La membrane d'activation est très dilatée dans la région du micropyle, et il arrive parfois que certaines cellules séreuses semblent avoir été entraînées à travers la membrane par des courants centrifuges de substances et amenées jusqu'à la zone extérieure de celle-ci.

Dans l'œuf retiré de la glacière, la bandelette germinative est formée de deux couches de grosses cellules cylindriques présentant de nombreuses divisions nucléaires. L'amnios n'est pas encore formé.

Le froid n'a eu d'autre rôle que de ralentir le développement. Il agit comme traitement bivoltinisant si on l'emploie après la formation de la bandelette germinative et qu'on le prolonge pendant au moins deux mois (TCHI-LOU-CHE). Il n'a aucune action quand il est employé seul avant la formation de la bandelette.

5° *Les œufs fécondés de la race bivoltine de première génération* ne changent pas de couleur ; ils conservent leur couleur jaunâtre jusqu'à la veille de l'éclosion, puis au moment de l'éclosion ils deviennent blanchâtres. Cette teinte est celle du ver vu à travers la coque transparente.

Nous n'avons jamais trouvé de pigments violets dans les cellules de la membrane séreuse de ces œufs. Celle-ci est une fois plus mince que la séreuse des univoltins.

Les cellules sont très étirées et moins nombreuses que dans la séreuse d'univoltin ; les noyaux sont beaucoup plus allongés. On peut faire la même remarque sur l'amnios, dont les cellules sont plus allongées et plus aplaties que celles de l'amnios des œufs de race univoltine. La membrane d'activation, située entre la séreuse et la membrane vitelline, a une forme dentelée et renferme de très petites granulations éparses. Elle est trois à quatre fois moins épaisse que celle des œufs univoltins traités, soit par l'acide chlorhydrique seul, soit par l'acide chlorhydrique et le froid. Cette épaisseur moindre de la membrane d'activation doit probablement tenir à ce que ceux-ci étant de beaucoup plus petite taille que les œufs de race univoltine, expulsent une moins grande quantité de déchets lors de leur épuration.

• L'éclosion a lieu dix jours après la ponte.

Le bivoltinisme qui apparaît dans certains cas comme héréditaire (race bivoltine) varie suivant les conditions climatériques.

La chaleur conditionne le développement des bivoltins. Les bivoltins transportés dans un pays froid deviennent univoltins. L'inverse a lieu également :

les univoltins deviennent bivoltins quand ils sont élevés dans un pays chaud.

LAMBERT et MAILLOT notent que la première génération de la race bivoltine éclot sous l'influence de la chaleur de l'été, qui joue le rôle de traitement activant.

En résumé, nous admettons avec BATAILLON que l'acide chlorhydrique, ainsi que tous les agents cytolytants qui provoquent le bivoltinisme artificiel et la parthénogénèse expérimentale, perméabilisent l'œuf et déclanchent en lui un nouveau rejet de certains déchets métaboliques qui s'ajoutent à ceux expulsés au moment de la pénétration des spermatozoïdes. Il en résulte un épaississement extraordinaire de la membrane de fécondation que l'on observe chez les œufs ayant subi un bivoltinisme artificiel par l'action de l'acide chlorhydrique de l'oxygène, de la chaleur, de l'électricité, du brossage, etc...

Dans les œufs univoltins fécondés à évolution normale, lors de la formation de la bandelette, les substances de déchet restent à l'intérieur de l'œuf et y maintiennent une assez forte hypertension qui bloque le développement ultérieur.

Si l'on fait subir à cet œuf un traitement cytolytisant qui, appliqué dans des conditions adéquates, va le rendre plus perméable et permettre alors le rejet de certaines substances, se traduisant par la formation d'une épaisse membrane activante, l'œuf allégé de ces substances se trouve ainsi dans des conditions favorables pour continuer son évolution jusqu'à l'éclosion du jeune ver.

BIBLIOGRAPHIE

- 1918-19. ACQUA (C.). — *Richerche comparative sul valore del trattamento elettrico e del trattamento chimico nella preparazione del seme bachi par i secondi allevamenti*. (Rendicondi dell' Istituto Bacologico del R. Scuola Sup. di Agricoltura in Portici. Vol. III, 1918-19).
1921. ACQUA (C.). — *La conservazione del bivoltinismo*. (Informazioni seriche).
1904. ANGLAS (J.). — *De l'origine des cellules de remplacement de l'intestin chez les Hyménoptères*. (C. R. Soc. Biol. T. 56, p. 173).
1906. BATAILLON (E.). — *Imprégnation et fécondation*. (C. R. Acad. Sc. Paris, CXCH).
- *L'embryogénèse complète provoquée chez les Amphibiens par piqûre de l'œuf vierge, larves parthénogénétiques de Rana fusca*. (C. R. Acad. Sc. Paris, 18 avril).
1928. BATAILLON et TCHOU-SU. — *Maturation, fécondation et polyspermie chez l'œuf de Bombyx mori*. (C. R. Acad. Sc. Paris, T. 186).
1930. BATAILLON et TCHOU-SU. — *Etudes analytiques et expérimentales sur les rythmes cinétiques dans l'œuf*. (*Hyla arborea*, *paracentrotus lividu*, *Bombyx mori*). (Extrait des archives de Biologie. T. XI).

1930. BATAILLON et TCHOU-SU. — *La réaction propre de l'œuf chez Hyla. Perivitellin et infécondabilité du matériel vierge hydraté.* (C. R. Acad. Sc. T. 191, p. 541).
1931. BATAILLON et TCHOU-SU. — *Les trois types de mitoses caractéristiques du premier développement chez l'œuf de Bombyx fécondé-ou parthénogénésique.* (C. R. Acad. Sc. T. 193, p. 415).
1931. BATAILLON et TCHOU-SU. — *Activation, élimination d'un globule polaire et polyvoltinisme chez le Bombyx du mûrier.* (C. R. Acad. Sc. T. 193, p. 380).
1906. BOLLE. — (In : Maillot et Lambert : *Traité sur le ver à soie du mûrier*).
1845. BASSI (A.). — *Il verro e l'utilè nell' educazione dei filugelli e dei gelsi.*
1850. BASSI (A.). — *Il fatto parlante all' autore sul modo di ben governare i bachi da seta non che su quello di prevenire e curare il terribil mal del segno o calcino.*
1925. BASSI (A.). — *Nella ristampa delle opere di Agostino Bassi a cura del Comitato Nazionale.* (Società Medico-chirurgica di Pavia. Pavia).
1869. BALBIANI (E. G.). — *Sur le mécanisme de la fécondation chez les Lépidoptères.* (C. R. Acad. Sc. T. LXVIII).
1867. BALBIANI (E.-G.). — *Observations sur la reproduction du Phylloxera du Chêne.* (Ann. d. Sc. Nat. Zool., 5^e sér. T. XIX, 1874).
— *Etude sur la maladie psorospermique des vers à soie.* (Mém. Soc. Biol., 4^e sér. T. IV, et Journ. Anat. et Phys. T. IV).
1882. BALBIANI (E.-G.). — *Sur la signification des cellules polaires des Insectes.* (C. R. Ac. Sc. T. XCV).

1885. BALBIANI (E.-G.). — *Contribution à l'étude de la formation des organes sexuels chez les Insectes.* (Revue suisse de Zool. T. II).
1889. BLANC (Louis). — *Etude sur la sécrétion de la soie et la structure du brin et de la bave dans le Bombyx Mori.* (Lyon).
- 1889-90. BLANC (Louis). — *La tête du Bombyx Mori à l'état larvaire, anatomie et physiologie.* (C. R. des travaux du Laboratoire d'Etudes de la soie. Lyon).
— *La tête du Bombyx Mori à l'état larvaire.* (Lyon).
1894. BELLATI et QUAJAT. — *Esperienze sullo schiudimento estemporaneo delle uova del Baco da seta.* (Atti. d. R. Istit. veneto d. Sc. Lett. ed. Arti. Ser. 7, T. III).
1896. BELLATI et QUAJAT. — *Sullo schiudimento estemporaneo della uova del baco da seta.* (Venise 1892. Turin).
1895. BENEDICENTI (A.). — *Recherches histologiques sur le système nerveux central et périphérique du Bombyx Mori.* (Arc. Ital. de Biologie. T. XXIV).
1891. BISSONE et VERNON. — *Cellule glandulari ipostigmatiche nel Bombyx Mori.* (Publication della stazione. Zool. di Padova).
1850. BOUCHARDAT (J.). — *De la digestion chez le ver à soie. Mémoire suivi d'observations sur les maladies de cet insecte.* (C. R. Ac. Sc. T. 31, p. 379).
1902. BUCCI (P.). — *Influenza della varietà delle foglie date ai bachi sulla qualità della seta.* (Stazione sperimentali agrarie italiane. Vol. XXX).
1907. BUCCI (P.). — *La digeribilità della foglia digelso in rapporto al razionale allevamento del filugello.* (Stazioni sperimentali agrarie italiane. Vol. XI).

1917. BRACHET (A.). — *L'œuf et les facteurs de l'ontogénèse*. (O. Doin. Paris).
1860. CASTELLANI (G.-B.). — *Dell' allevamento dei bachi da seta in China, fatto ed osservato sui fluoghi*. (Firenze).
1922. COLANGELO (G.). — *In quali periodi della vita del baco da seta i fattori esterni passano influire sul bivoltinismo*. (Informazioni seriche).
1896. BOEB. — *Ueber Kernteilung ohne Zellteilung*. (Ar. K. f. Entw. Mech. 52).
1927. BABCOCK (K.-W.). — *The european corn Borer pyrausta nubilalis Hübn. I. A. discussion of its dormant period*. (Ecology, T. VIII, n° 1, pp. 45-59).
1914. BAUMBERGER (J.-R.). — *Studies in the longevity of insects*. (Ann. Ent. Soc. Amer, t. VII, n° 4, pp. 323-354).
1932. COUSIN (G.). — *Etude expérimentale de la diapause des Insectes*. (Bulletin biologique de la France et de la Belgique).
1923. COURIER (R.). — *Nouvelle remarque sur la membrane*. (C. R. Acad. de Paris, CCXXVIII, 249).
1924. COURIER (R.). — *Perméabilisation expérimentale de l'œuf vierge d'Oursin*. (Ibid, CCXXVIII, 597).
1925. DELLA CORTE (M.). — *Lo spessore del guscio della uova di Bombyx Mori nella principali razze oggi allevate*. (Bollettino della R. Stazione sperimentale di Gel-sicoltura e Bachicoltura di Ascoli Piceno. Ans. IV. N. 6).
1928. DALCQ (Albert). — *Les bases physiologiques de la fécondation et de la parthénogénèse*. (Paris).

1913. DELAGE (Y.) et GELDSCHMITH (M.). — *La parthénogénèse naturelle et expérimentale.* (Paris).
1869. DUCLAUX (E.). — *Recherches sur la respiration et l'asphyxie des graines du ver à soie.* (C. R. Acad. d. Sc. ; Ann. Sc. de l'Ecole Normale Supérieure).
1869. DUCLAUX (E.). — *De l'influence du froid de l'hiver sur le développement de l'embryon du ver à soie et sur l'éclosion de la graine.* (Lettre à M. Pasteur).
1871. DUCLAUX (E.). — *Etude physiologique sur la graine du ver à soie.* (Ann. Chimie et Physique, 4^e série, T. IV).
- 1876-1874.—DUCLAUX (E.). — *De l'action physiologique qu'exercent sur les graines de ver à soie des températures inférieures à zéro.* (C. R. Acad. d. Sc. T. LXXXIII).
1876. DUCLAUX (E.). — *Congrès séricicole de Milan.*
1920. DECOPPET (M.). — *Le Hanneton.* (Lausanne).
1925. EPHRNSSI (B.). — *Sur la membrane de fécondation de l'œuf d'Oursin (Paracentrotus lividus L. K.). Action du liquide Cœlomique.* (C. R. Ac. Sc. Paris, CCXXX, 775).
1922. ELDER (J.-C.). — *The relation of the zona pellucida to formation of the fertilization membrane in the egg of the sea-urchin, Strong. lividus.* (Arch. f. Ent.-mech., XXXV, 145).
1927. FOA (Anna). — *L'epithelio dell' intestino metia baco da seta sano e in guello malato di flaccidezza.* (Rend. d. Istituto Bac. d. Sc. super. di Agric. in Portici, vol. III, p. 41-68).
1927. FOA (Anna). — *Osservazioni ed esperienze sul bivoltinismo del baco da seta.* (Mosena societa tipografica Modenese Antica Tipografica Soliani).

1918. FOA (C.). — *Sur le développement des œufs de Strongilocentrotus lividus soumis à l'action du suc exprimé du sperme hétérogène.* (Arch. it. Biol. CXVIII, 184).
1898. GAL (J.). — *Etude sur les vers à soie.* (Bul. Soc. d. Etude de Sc. Nat., Nîmes).
- GASPARIN (Comte de). — *Rapport sur le mémoire de M. André Jean, relatif à l'amélioration de races de ver à soie.* (C. R. Acad. Sc. T. XLIV).
1841. GASPARIN (Comte de). — *Mémoires d'agriculture et d'économie rurale.* (Paris).
1874. GOBIN. — *Mûriers et vers à soie.* (Paris).
1870. GRIMM (Oscar). — *Die ungeschlechtliche Fortyglazung einer Chironomus u. deren Entwicklung aus dene unberuchteten. Eif.* (Mem. Acad., imp. Saint-Pétersbourg, 7^e sér., T. XV).
1906. GERA. — In : *Maillot et Lambert, traité sur ver à soie du Mûrier*, p. 76.
1926. GERA, BONAFOUS et TERAHINI. — (Grainage chinois, pp. 224-236, Changhai).
1922. GRAY (J.). — *A critical study of the facts of artificial and normal Fertilization.* (Quart. Journ. Micr. Sc. LXVI).
1922. GRAY (J.). — *Surface tension ond cell-division.* (Ibid, LXVI, 235).
1919. GARREY (W.-E.). — *The nature of the fertilization membrane of Asterias and Arbacia eggs.* (Biol. Bull. XXXVII, 287).
1896. HEYMONS (R.). — *Zur Morphologie des Abdominalanhänge bei den Insekten.* (Morphol. Jahr. Bd. XXIV, pp. 178-204).

1927. HAHERLANDT. — (Grainage chinois, p. 225. Changhai).
1926. HELLER (J.). — *Chemische Untersuchungen über die Metamorphos des Insetcten. III. Ueber die « substance » und « latente » Entwicklung.* (Biochem Zeitschr, t. CLXIX, pp. 208-234).
1926. HELLER (J.). — *Chemische Untersuchungen über die Metamorphose der Insekten über den Hungersstoffwechsel der Schmetterlinge.* (Biochem. Zeit., CLXIX, pp. 74-81).
1915. HEILBRUNN (L.-V). — (Science, V. S. XCH, 615).
1930. JUCCI (Carlo). — *Esperimenti sulla eredita materna. Influenza del carattere dello spermio sulle capacità di suiluppo dell' novo nei bachi da seta.* (Estratto da Studi sassaresi serie II, Vol. VIII, Fasc. III).
1928. JUCCI (Carlo). — *La variabilità individuale della capacità di partheno genesi in razza bivoltina di bachi da seta.* (Estratto dal Bollettino della Societa dei Naturalisti in Napoli, Vol. XL (série II, vol XX). Anno XLII, Atti, p. 88-94).
1924. JUCCI (Carlo). — *Bivoltinismo e parthenogénési nei bachi da seta (Bombyx Mori).* (Rend. Acc. Lincei, Vol. 33 (5) 2° sem. Fasc. 9, pp. 345-8, Sed. 2 nov. pres. 15 ott.).
1924. JUCCI (Carlo). — *Vario grado ti tendenza alla parthenogenesi nelle varie razze di bachi da seta (Bombyx Mori) et probabile correlazione col carie grado di tendenza al bivoltinismo.* (Rend. Acc. Lincei, Vol. 33 (5), 2° sem. Fasc. 10, p. 435-7, sed. 16 nov. (pres. 15 ott.).
1924. JUCCI (Carlo). — *Sull' eredita del pipo metabolico nei bachi da seta il bivoltinismo.* (Annali R. Sc. Sup. Agr. Portici V, XIX, e Boll. lab. Zool. gen. e agr. portici, V. XVII. p. 187-318).

1924. JUCCI (Carlo). — *Bivoltinismo e parthenogenesi nei bachi da seta (Bombyx Mori)*. (Rend. Acc. Lincei, V. XXXIII, ser, 5 a., 2° sem. fasc. 9, p. 345-8, novembre).
1918. KIYOSHI (Katsuki). — *Cytologische Studien über die samengellen von seidenraupen*. (Bull. of the Imperial sericultural Experiment station Japon. Vol. 1, n° 2, Tokio).
1927. KAO TCHIOU-CHÉ. — (Grainage chinois, 1927).
1927. KONOPACKI (M.) et KONOPACKA (B.). — *La Micromorphologie du métabolisme dans les périodes initiales du développement de la grenouille (Rana fusca)*. (Bull. int. ac. Cracovie, n°s 5-4. série B., 229).
1881. KOWALEVSKY. (A.). — (Embryologische Studien on Wurmern und Arthropoden. Acad. Saint Petersburg (7), T. XVI).
1906. LAMBERT et MAILLOT. — *Traité sur le ver à soie du Mûrier*.
1911. LOEL (J.). — *La fécondation chimique*. (Paris, 1911).
1924. LORENZA. — *Carrateri intermedi di colorazione nella nova del filue giallo in rapporto al bivoltinismo*. (Estratto dal Bollettino della R. Stazione di Gelsicoltura e Bachicoltura di Ascoli Piceno-Anno III, N. D).
1917. LÉCAILLON (A.). — *Sur la signification des changements de couleur qui se produisent normalement dans certains œufs non fécondés de Bombyx Mori et sur la formation, dans cette espèce, de véritables chenilles d'origine parthénogénétique*. (Paris, C. R. Acad. Sci., T. 165).
1917. LÉCAILLON (A.). — *Sur la biologie des chenilles et des papillons de Bombyx Mori ayant une origine parthénogénétique*. (Paris, C. R. Acad. Sci., 165).

1917. LÉCAILLON (A.). — *Sur l'apparition de « bivoltins accidentels » dans les races univoltines de Bombyx du mûrier et sur l'explication rationnelle de ce phénomène.* (Paris, C. R. Ac. Sci., 165).
1917. LÉCAILLON (A.). — *Sur les caractères spéciaux que présentent, aux différents stades de leur développement, les bivoltins accidentels qui se produisent chez le Bombyx du mûrier.* (Paris, C. R. Acad. Sci., 165).
1917. LÉCAILLON (A.). — *Sur l'aptitude à la parthénogénèse naturelle, considérée sur diverses races ou variétés de Bombyx Mori du mûrier.* (Paris, C. R. Acad. Sci., 165).
1918. LÉCAILLON (A.). — *Sur quelques données cytologiques relatives aux phénomènes de parthénogénèse qui se produisirent chez le Bombyx du mûrier.* (C. R. Acad. Sci., Paris, 166).
1919. LÉCAILLON (A.). — *Sur la reproduction et le développement des bivoltins accidentels et de la première génération qui en dérivent, chez le Bombyx du mûrier.* (C. R. Sci., Paris, T. 168).
1919. LÉCAILLON (A.). — *Sur les changements que l'on observe dans la reproduction et le développement des Bombyx polyvoltins de Chine, lorsqu'ils sont transportés et élevés en France.* (C. R. Acad. Sci., Paris, T. 168).
1927. LÉCAILLON (A.). — *Les varités et les races artificielles chez le Bombyx du mûrier (sericaria mori Bombyx du mûrier).* (Mém. Acad. Sci. Inscript. Toulouse (11), pp. 124-225).
1928. LÉCAILLON (A.). — *La pigmentation des ailes chez le Bombyx Mori du mûrier.* (Bull. Soc. Hist. Nat. Toulouse, 57, pp. 242-244).

1927. LÉCAILLON (A.). — *Les variétés et les races artificielles chez le Bombyx du mûrier (Sericaria mori L.)*. (Arch. Anat. Micr., Paris, 25, pp. 519-529).
1916. LÉCAILLON (A.). — *Sur la ponte des œufs non fécondés et sur la parthénogénèse du Bombyx du Mûrier*. (Paris, C. R. Acad. Sci., 162).
1916. LÉCAILLON (A.) — *Sur l'existence de deux générations annuelles chez la Galerue de l'Orme (Galeruqua luteola F. Müller) et sur la manière dont elle se succède*. (Paris, C. R. Acad. Sci.).
1931. LIOU (Tcheng Tcheng-Houa). — *Recherches sur le mécanisme de transformation de races univoltines en bivoltines chez le Bombyx Mori*. (C. R. Soc. Agr. Chine Nouv. T. 5, p. 4 ; séance du 27 juillet 1931. Bull. Annuel Soc. Agr. Chine Nouv. T. 6, p. 5).
1932. LIOU (Tchang Tcheng-Houa). — *Sur diverses particularités du développement de l'œuf de Bombyx mori sous l'influence d'agent bivoltinisant*. (C. R. Acad. de Sciences, T. 195, p. 334).
1888. LUCIANI et PUITTI. — *Sur les phénomènes respiratoires des œufs du Bombyx Mori du mûrier*. (Archives italiennes de Biologie).
1885. MAILLOT. — *Leçons sur le ver à soie du mûrier*.
1931. MASAKICHI (Hori). — *Electric incubation of the Silk-worm Eggs*. (Kyoto sericultural Colls).
1927. MACHIDA (Jiro). — *On the secretion of the silk substance in the silkworm (Bombyx Mori L.)*. (Reprinted. From. the Journ. of the college of Agriculture imperial University of Tokyo, vol. IX, n° 2).
1926. MACHIDA (Jiro). — *The developpement of the Ovary in the silkworm Bombyx Mori*. (Reprinted from the Journ. of the college of Agriculture, Imperial University of Tokyo, vol. VII, n° 4).

1921. MOLLO (A.). — *Influenza della temperatura di incubazione del senco sulla conservazionne del bivoltinismo*. (Informazioni Seriche).
1910. MC CLENDON (J.-E.). — (Science, XXXII, 1220 ; XXXIII, 317).
1910. MC CLENDON (J.-E.). — (Proc. Soc. exp. biol. med., VIII, 1).
1921. MOZZICONACCI (A.). — *Le ver à soie du mûrier*.
1899. NAZARI (A.). — *Ricerche sulla struttura del tubo digerente e sul processo digestivo dei Bombyx Mori allo stato larvale*. (Ricerche fatte nel laboratorio anatomia normale della R. Univ. di Roma. Vol. VII, p. 75-85).
1926. NOEL (R.) et PAILLOT (A.). — *Sur le chondriome des cellules péricardiales du Bombyx Mori du mûrier et de Pieris brassicae*. (C. R. Soc. Biol. T. XCV, 43).
1870. PASTEUR (L.). — *Etude sur la maladie des vers à Soie*. (T. I, p. 276, Paris).
1926. PAILLOT (A.). — *Traité des maladies du ver à soie*. (Paris).
1858. PELOGOT (E.). — *Sur la composition de la peau des vers à soie*. (Paris).
1917. PICTET (A.). — *Influence de la pression atmosphérique sur le développement des Lépidoptères* (Arch. des Sciences Physiques et Naturelles, T. XIV).
1906. PRUDHOMME (F.). — *La sériciculture aux colonies. Etude faite à Madagascar*. (Bibliothèque d'Agric. Coloniale, Paris).

1927. PARKER (H.-L.) and THOMPSON (W.-R.). — *A contribution to the study of hibernation in the larve of the European corn-borer (Pyrausta nubilalis Hübn).* (Ann. ent. soc. Amer., T. XX, pp. 10-22).
1926. PICARD (F.). — *Recherches sur la biologie de l'Altise de la vigne (Haltica ampelophaga Grüer).* (Ann. Epiphyties, T. XI, pp. 177-196).
1903. QUAJAT. — *Influenza della trementina sulla vitalità del seme.* (Padoue).
1899. QUAJAT. — *Sulla soernaturaedmeucubazione delle uova del filu giallo.* (Padoue).
1901. QUAJAT. — *Anormalità nello schindimento del seme bivoltino.* (Annuario della R. Stazione bacologica di Padova. Vol. XXIX).
1911. QUAJAT. — *Sulla riproduzione degli incroci e su alcuni caratteri ereditari che presenta la sericaria Mori in relazione colle leggi di Mendel.* (Annuario Della R. Stazione bacologica di Padova, Vol. XXXVIII).
1912. QUAJAT et TOMASELLI. — *Azione dell' elettricità durante le singole fasi della vita intraovulare nel borbice del gelso.* (Annuario della R. Stazione bacologica di Padova. Vol. XXXIX et XL).
1922. ROUBAUD (E.). — *Etude sur le sommeil d'hiver pré-imaginal des Muscides.* (Bulletin Biologique de la France et de la Belgique. Tome LVI, fasc. 4).
1913. ROLET (A.). — *Expériences sur les œufs du ver à soie du mûrier, race annuelle.* (C. R. Acad. d. Sc. T. CXIX).
1931. ROUBAUD (E.). — *Fatigue évolutive cyclique et lignées infatigables chez la mouche verte commune Lucilia sericata Meig.* (C. R. Ac. Sc. T. CXCI, pp. 204-205).

1923. RUNNSTROM (J.). — *Eine lipoide oberflacheuschicht bei dem Seeigelei besonders ueber ihr verhalten bei der Aktivierung.* (Acta Zool, IV, 286).
1924. RUNNSTROM (J.). — *Zur Kenntuis der Zustande Veranderungen der Plasmakolloide bei der Reifung Befruchtung und Teilung der Seeigeleies.* (Ibid, V. 345).
1924. RUNNSTROM (J.). — *Plasmaverranderungen bei der Reifung und Befruchtung der Seeigeleins.* (Ibid, XVI, n 30, 1).
1874. SUSANI (G.). — *Se nel fenomeno delle nascite dei bachi da seta, procurate colle strofinamento, possa o no tenersi per accertata l'azione dell' elettricità.* (Atti. d. R. Istit. Lomb., vol. VII).
1896. SAJO (K.). — *Sommerschlaf eines Kafers.* (Illustr. Wochenz. Entom., T. L. pp. 87-89).
— *Kälte und Insektenleben.* (Illustr. Wochenz. Ent. T. X. L., pp. 394-397, 405-407).
1891. TICHOMIROFF (A.). — *Développement du ver   soie du m rier dans l' uf.* (Rap. Lab.  tud. Soie de Lyon).
1882. TICHOMIROFF (A.). — *Entwicklungsgeschichte des Seidenspinners (Bombyx Mori).* in Ei. (Arb. Labor. Zool. Mus Moskou. Bd. I).
1885. TICHOMIROFF (A.). — *Chimische Studien  ber die Entwicklung des Insecteneier.* (Zeitschrift. für physiologische chemie, Bd. IX, p. 518).
1920. TERNI. — In : Pierre Vi il : Sériciculture, p. 105.
1906. TERAHINI et DUCLAUX. — In : Maillot et Lambert : *Traité sur le ver à soie du mûrier.*
1931. TCHANG YUNG TAL. — *Sur la structure de l'épithélium du mesenteron chez l'embryon du ver à soie.* (Bulletin of the National Acad. of Peiping, novembre).

1927. TCHI-LON-CHE. — Grainage chinois, p. 225.
1926. TOWNSEND (C.-H.). — *Methods of environmental Work for indicating insectcontrol measures*. Ecology, T. VII, pp. 326-337).
1926. TOWNSEND (C.-M.). — *The breaking-up of hibernation in the colding moth larva*. (Ann. Ent. Soc. Amer., T. XIX, pp. 429-439).
1928. TOWNSEND (C.-H.). — *Seasonal abundance an the vertical migrations of Lucilia caesar L. and other insects in an artifical grave*. (Ann. Ent. Soc. Amer., T. XXI, pp. 121-131).
1929. UVAROW (B.-P.). — *Weather and climate in their relation to insects*. (Conf. of Empire, meteor. Agric. sect., London, pp. 130-146).
1910. VANEY et CONTE. — *Recherches sur le développement de l'œuf univoltin du ver à soie*. (Compte rendu Académique des Sciences, 28 février).
1919. VANEY et CONTE. — *Evolution du vitellus dans l'œuf du ver à soie*. (Rap. Lab. étude de la Soie, Lyon).
1911. VANEY et CONTE — *L'apparition des initiales génitales chez le Bombyx Mori*. (Paris, C. R. Soc. Biol., p. 71).
1905. VANEY et MAIGNON. — *Variations subies par le glucose, le glycogène, la graisse et les albumines solubles au cours des métamorphoses du ver à soie* (Compte rendu Acad. des Sciences, 1^{er} mai).
1905. VANEY et MAIGNON. — *Influence de la sexualité sur la nutrition du Bombyx Mori aux dernières périodes de son évolution. Localisation du glycogène, des graisses et des albumines solubles au cours de la nymphose*. (Compte rendu Acad. des Sciences, 8 mai).

1905. VANEY et MAIGNON. — *Contribution à l'étude physiologique des métamorphoses du ver à soie*. (Rapport du Lab. étude de la Soie. Vol. XII).
1887. VERNON (A.). — *Il filugello e l'arte de governarlo*. (Società editrice libraria. Milano, 1917).
- *Der Bau des Stigmen von Bombyx Mori*. (Zool. Anzeiger, 10 Jahrg).
- *Ueber Parthenogenesis bei Bombyx Mori*. (Zool. Anzeiger 11, Jahrg 1888).
1895. VERNON (A.). — *Accessori nel maschio del Bombyx Mori*. (Publ. R. Stoz. Bacol. sper. Patova).
1899. VERNON (A.). — *Del grado di sviluppo che segliono raggiungere le uova non fecondate del filugello*. (Boll. Soc. ent. Ital. Anno 21-Boll. mens. di Bachi. col).
1897. VERNON (A.). — *La evoluzione del tubo intestinale del filugello*. (Atti del B. Istituto Veneto di Sc. Let. Artc. T. VIII, ser. VII).
1905. VERNON (A.). — *Entwicklung des Darmkanals bei Bombyx Mori*. (Zeitchr. of Wiss. Zool Bd. LXXXII).
1884. VERNON (A.). — *La compositione chimica dei gusci nella del filugello*. (Padoue).
1887. VERNON (A.). — *Il meccanismo di chinsura negli stimati di Bombyx Mori*. (Atti. Istit. Veneto Sc.)
1874. VERNON (A.). — *Le ver à soie du mûrier*.
1901. VIGNON (P.). — *Recherches sur l'histologie du ver à soie*. (Bull. Soc. Zool. France, T. XXVI, 8).
1901. VIGNON (P.). — *Recherches de cytologie générale sur les épithéliums*. (Arch. Zool. Exper. 3^e séri., T. 9).

1894. VERNON et QUAJAT. — *Sullo strofinamento e sulla svernatura artificiale, allo scopo di anticipare lo schiudimento delle uova del baco da seta.* (Padoue).
1875. VERNON et QUAJAT. — *Note intorno allo schiudamento anticipato delle uova del baco da seta.* (Padoue).
1874. VERNON et QUAJAT. — In : A. Mozziconacci : *Sériciculture*, p. 105.
1920. VIEIL (Pierre). — *Sericiculture.*
1890. VIALLANES (H.). — *Sur quelques points de l'histoire du développement embryonnaire de la Mente religieuse. Communication préliminaire.* (Rev. Biol. ii, pp. 479-488).
1891. WHEELER (W.-M.). — *On the appendages of the first abdominal segment of embryo Insects.* (Trans. Wis. Acad. Sc. Vol. VIII).
1809. WHEELER (W.-M.) — *A contribution to Insect embryology* In. *Diss.* (Journ. of Morphol. Vol. IV).
1890. WHEELER (W.-M.). — *Hydrociamic acid secreted by Polydesmus virginensis Drury.* (Psyche. Vol. V).
1863. WEISSMANN (A.). — *Die Entwicklung der Dipteren in Ei nach Beobachtungen an Chironomus sp. Musca vomitoria und Pulex canis.* (Zeitschr. f. Wiss. Zool. Bd. XIII).
1904. WHEELER. — (In : F. Hennequy : *Les Insectes*, p. 347).
1921. WESINGER (L.). — *Contribution to the biology of the danish culicids.* (Mem. Ac. Roy. Sc. et Lettres, Dannemark, 8^e série; t. L, p. 1210).
-

TABLE DES MATIÈRES

	PAGES
INTRODUCTION	5
CHAPITRE I. — <i>Matériel et technique</i>	13
CHAPITRE II. — <i>Etude de l'œuf normal de race univoltine</i>	19
A. Historique	19
B. Étude de l'œuf vierge	21
C. Étude de l'œuf fécondé	25
D. Développement de l'œuf fécondé	27
1° Examen des enveloppes : chorion et mem- brane d'activation	27
2° Formation du blastoderme	31
3° Formation de la bandelette germinative	32
4° Formation des enveloppes embryonnaires ..	35
A). Séreuse	35
B). Amnios	35
5° Evolution de la bandelette	39
A). Formation de l'embryon et de ses or- ganes	39
B). Changement de position de l'embryon ..	46
6° Evolution du vitellus	47
CHAPITRE III. — <i>Etude du développement de l'œuf de race univoltine activé par traitement à l'acide chlorhydrique</i>	51
A. Historique	51
B. Observation sur le vivant	52
C. Étude du développement	56
1° Examen des enveloppes : chorion et mem- brane d'activation	56
2° Formation de la bandelette	59

	PAGES.
3° Formation des enveloppes embryonnaires..	62
A). Séreuse	62
B). Amnios	63
4° Evolution de la bandelette.....	64
A). Formation de l'embryon	64
B). Changement de position de l'embryon	66
5° Evolution du vitellus	66
D. Comparaison avec le développement normal..	67
 CHAPITRE IV. — <i>Etude du développement de l'œuf de</i> <i>race univoltine activé par traitement à l'acide</i> <i>chlorhydrique froid</i>	71
A. Historique	71
B. Observation sur le vivant	74
C. Etude du développement	75
1° Examen des enveloppes : membrane d'ac-	75
tivation	
2° Formation de la bandelette.....	77
3° Formation des enveloppes embryonnaires..	80
A). Amnios	79
B). Séreuse	80
4° Evolution de la bandelette.....	81
A). Formation de l'embryon et de ses or-	81
ganes	
B). Changement de position de l'embryon	83
5° Evolution du vitellus	83
D. Comparaison avec le développement normal....	85
 CHAPITRE V. — <i>Etude du développement de l'œuf de</i> <i>race bivoltine de première génération</i>	89
A. Historique	89
B. Observation sur le vivant	93
C. Etude du développement	93
1° Examen des enveloppes : chorion et mem-	93
brane d'activation	
2° Formation de la bandelette	95
3° Formation des enveloppes embryonnaires..	96
A). Séreuse	96
B). Amnios	97

	PAGES
4° Evolution de la bandelette.....	98
A). Formation de l'embryon et de ses or- ganes	98
B). Changement de position de l'embryon	99
5° Evolution du vitellus	99
D. Comparaison avec le développement normal..	100
CONCLUSIONS. — <i>Examen comparatif des résultats ob- servés. — Hypothèses sur l'action des différents agents activants</i>	103
BIBLIOGRAPHIE	111

SECONDE THÈSE

PROPOSITION DONNÉE PAR LA FACULTÉ

Maladies du Ver à soie

Lu et accepté :

Les Membres du Jury :

VANEY.

SOLLAUD,

PELOSSE.

Vu et approuvé :

*Le Doyen de la Faculté des Sciences
de Lyon :*

V. GRIGNARD.

Vu et permis d'imprimer :

LYON, le 17 Novembre 1932.

*Le Recteur,
Président du Conseil de l'Université :*

LIRONDELLE.

PLANCHE I

FIG. 1. — *Œuf non fécondé (race univoltine). Coupe longitudinale immédiatement après la ponte.*

Œuf fécondé (race univoltine). Coupes longitudinales :

FIG. 2. — *Immédiatement après la ponte.*

FIG. 3. — *Vingt-quatre heures après la ponte.*

FIG. 4. — *Soixante-deux heures à trois jours après la ponte.*

am. = amnios.

bd. = bandelette germinative.

bl. = cellules blastodermiques.

c. v. = cellules vitellines.

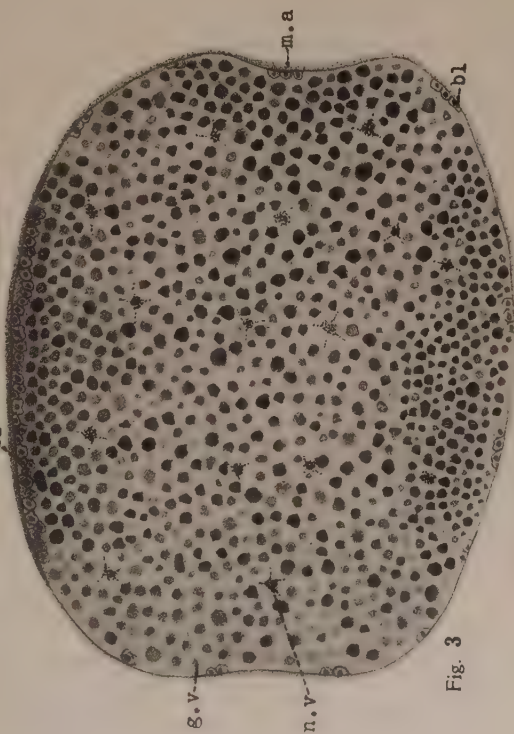
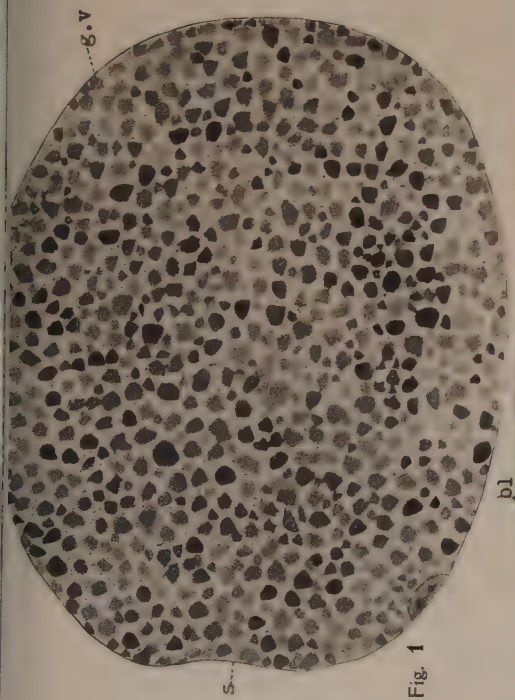
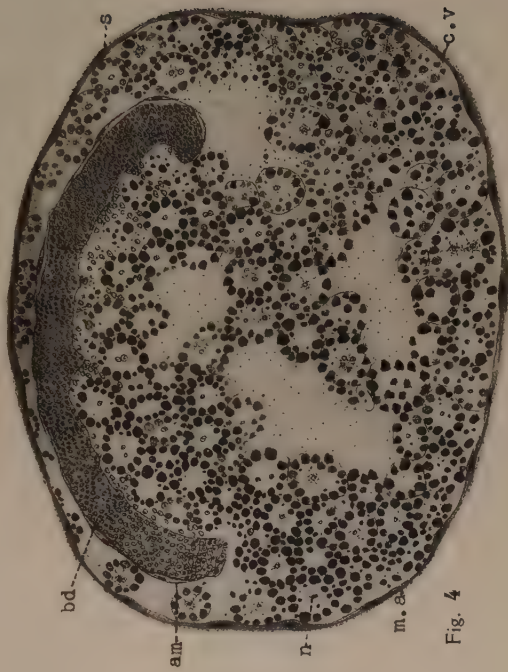
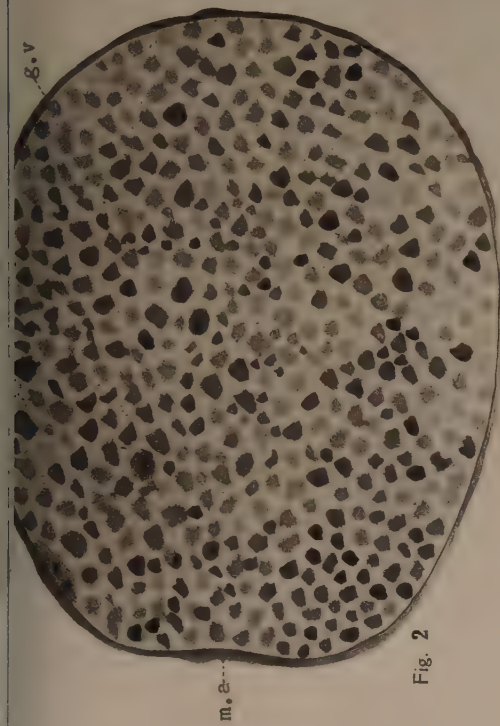
g. v. = globules vitellins.

m. a. = membrane d'activation ou de fécondation.

n. = noyaux de cellules vitellines.

n. v. = noyaux vitellins.

s. = séreuse.



500 μ

PLANCHE II

Œuf fécondé de race univoltine. Coupes longitudinales :

FIG. 5. — *Au moment de la mise en incubation.*

FIG. 6. — *Deux jours après la mise en incubation.*

FIG. 7. — *Quatre jours après la mise en incubation.*

FIG. 8. — *Six jours après la mise en incubation.*

- am.* = amnios.
- ap.* = appendices.
- bd.* = bandelette germinative.
- c. ad.* = corps adipeux.
- c. th.* = cellules trichogènes.
- c. v.* = cellules vitellines.
- ec.* = formations écailleuses.
- g. g* = glandes génitales.
- i. a.* = intestin antérieur.
- i. m.* = intestin moyen.
- i. p.* = intestin postérieur.
- m.* = muscles.
- m. a.* = membrane d'activation.
- n. v.* = noyaux des cellules vitellines.
- o. b.* = ouverture buccale.
- œs.* = œsophage.
- s.* = séreuse.
- s. n.* = système nerveux.
- tg.* = tégument.

NOTA. — *Sur la figure, il a été imprimé par erreur « PLANCHE I » au lieu de « PLANCHE II ».*

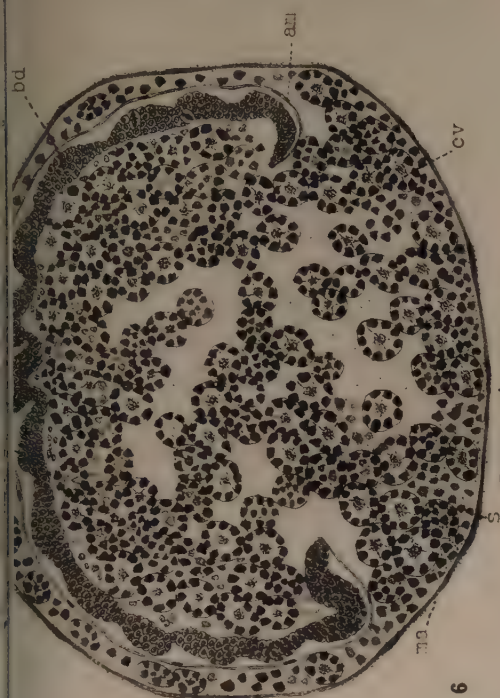


Fig. 6



Fig. 8



Fig. 5

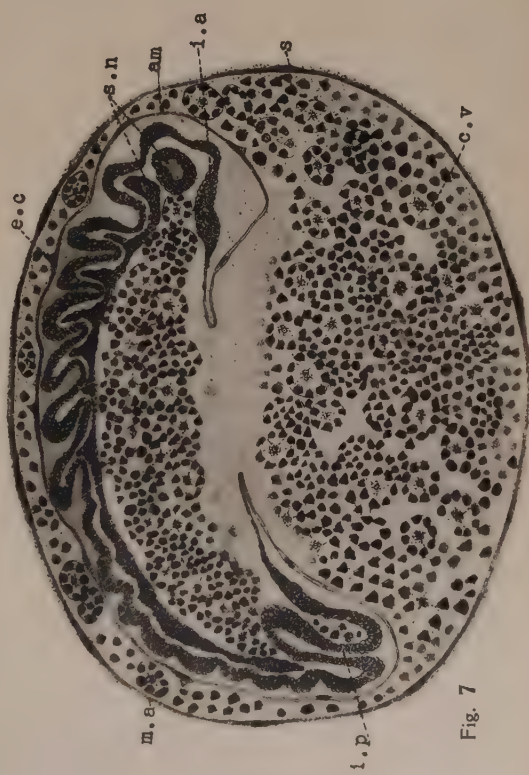


Fig. 7

PLANCHE III

FIG. 9. — Œuf fécondé de race univoltine. Coupe longitudinale, huit jours après la mise en incubation.

Œuf fécondé, de race univoltine, traité par l'acide chlorhydrique concentré.
Coupes longitudinales :

FIG. 10. — Vingt-quatre heures après la ponte et immédiatement après le traitement.

FIG. 11. — Quarante-huit heures après le traitement.

FIG. 12. — Quatre jours après le traitement.

- am.* = amnios.
- ap.* = appendices.
- bd.* = bandelette germinative.
- bl.* = cellules blastodermiques.
- c. ad.* = corps adipeux.
- c. v.* = cellules vitellines.
- e. i. m.* = épithélium de l'intestin moyen.
- g. g.* = glandes génitales.
- g. so.* = glandes soyeuses.
- g. v.* = globules vitellins.
- i. m.* = intestin moyen.
- i. p.* = intestin postérieur.
- m. a.* = membrane d'activation.
- m.* = muscles.
- n. v.* = noyaux vitellins.
- o. b.* = ouverture buccale.
- œs.* = œsophage.
- p.* = poils.
- s. n.* = système nerveux.
- s.* = séreuse.



PLANCHE IV

*Œuf fécondé, de race univoltine, traité
par l'acide chlorhydrique. Coupes lon-
gitudinales :*

FIG. 13. — *Cinq jours après le traitement.*

FIG. 14 — *Six jours après le traitement.*

FIG. 15 — *Sept jours après le traitement.*

FIG. 16. — *Huit jours après le traitement.*

- am.* = amnios.
- ap.* = appendices.
- c. ad.* = corps adipeux.
- cœ.* = cœur.
- c. v.* = cellules vitellines.
- c. th.* = cellules trichogènes.
- ec.* = formations écailleuses.
- e. i. m.* = épithélium de l'intestin moyen.
- ep. d.* = épithélium dorsal.
- g. so.* = glande soyeuse.
- i. a.* = intestin antérieur.
- i. m.* = intestin moyen.
- i. p.* = intestin postérieur.
- m.* = muscles.
- m. a.* = membrane d'activation.
- n. v.* = noyaux des cellules vitellines.
- o. b.* = ouverture buccale.
- s.* = séreuse.
- s. n.* = système nerveux.



Fig. 14



Fig. 16

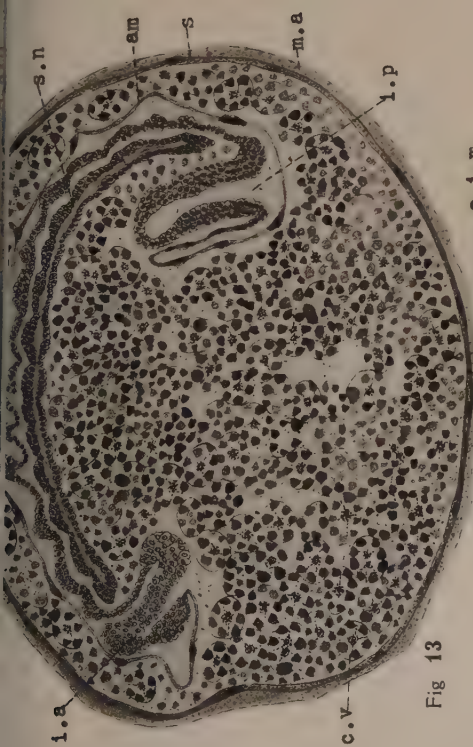


Fig. 13

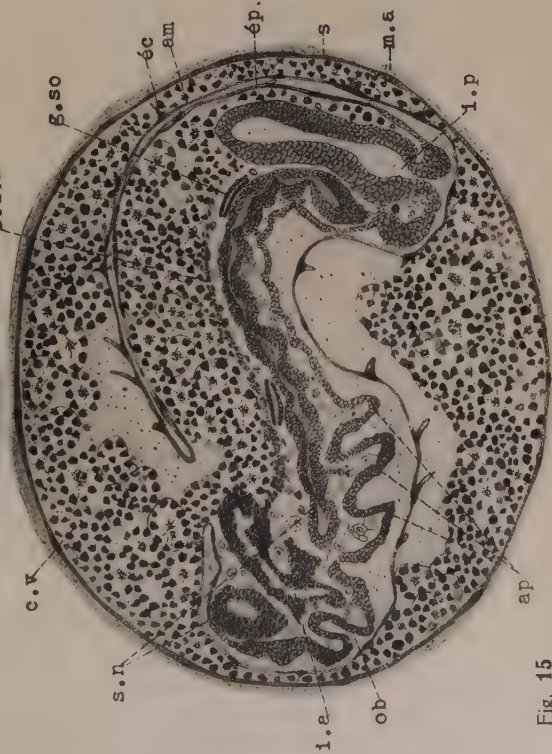


Fig. 15

PLANCHE V

Œuf fécondé, de race univoltine, après traitement combiné par l'acide chlorhydrique et le froid. Coupes longitudinales :

FIG. 17. — *Immédiatement après le traitement.*

FIG. 18. — *Vingt-quatre heures après le traitement.*

FIG. 19. — *Six jours après le traitement.*

FIG. 20. — *Dix jours après le traitement.*

<i>am.</i>	= amnios.
<i>ap.</i>	= appendices.
<i>bd.</i>	= bandelette germinative.
<i>c. ad.</i>	= corps adipeux.
<i>c. v.</i>	= cellules vitellines.
<i>c. th.</i>	= cellules trichogènes.
<i>ec.</i>	= formations écailleuses.
<i>g. g.</i>	= glandes génitales.
<i>g. v.</i>	= globules vitellins.
<i>i. a.</i>	= intestin antérieur.
<i>i. m.</i>	= intestin moyen.
<i>i. p.</i>	= intestin postérieur.
<i>m.</i>	= muscles.
<i>m. a.</i>	= membrane d'activation.
<i>n. v.</i>	= noyaux vitellins.
<i>s.</i>	= séreuse.
<i>s. n.</i>	= système nerveux.



Fig. 18



Fig. 20



Fig. 17



Fig. 19

PLANCHE VI

Œuf fécondé, de race bivoltine, de première génération. Coupes longitudinales :

FIG. 21. — *Deux jours après la ponte.*

FIG. 22. — *Quatre jours après la ponte.*

FIG. 23. — *Six jours après la ponte.*

FIG. 24. — *Coupe longitudinale dans la bandelette germinative de l'œuf fécondé de race univoltine, soixante-deux heures à trois jours après la ponte.*

FIG. 25. — *Formation de la membrane séreuse de l'œuf fécondé, de race bivoltine, de première génération. Coupes faites :*

A. — *Deux jours après la ponte.*

B. — *Quatre jours après la ponte.*

C. — *Six jours après la ponte.*

am. = amnios.

bd. = bandelette germinative.

c. ad. = corps adipeux.

c. v. = cellules vitellines.

c. th. = cellules trichogènes.

ec. = formations écailleuses.

g. g. = glandes génitales.

g. v. = globules vitellins.

i. a. = intestin antérieur.

i. m. = intestin moyen.

i. p. = intestin postérieur.

m. = muscles.

m. a. = membrane d'activation.

o. b. = ouverture buccale.

s. = séreuse.

s. n. = système nerveux.

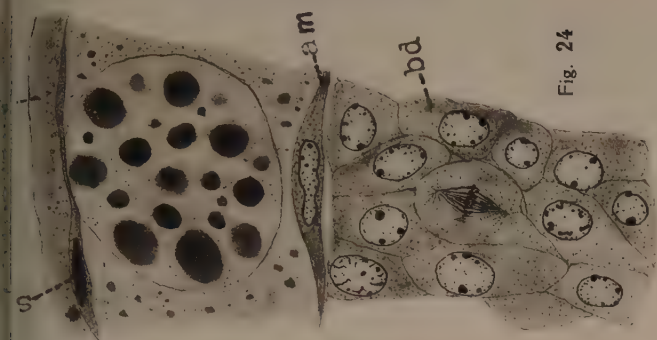


Fig. 24

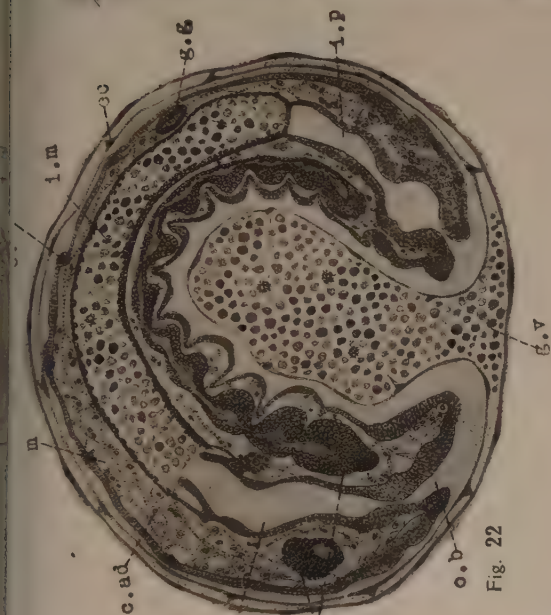


Fig. 22

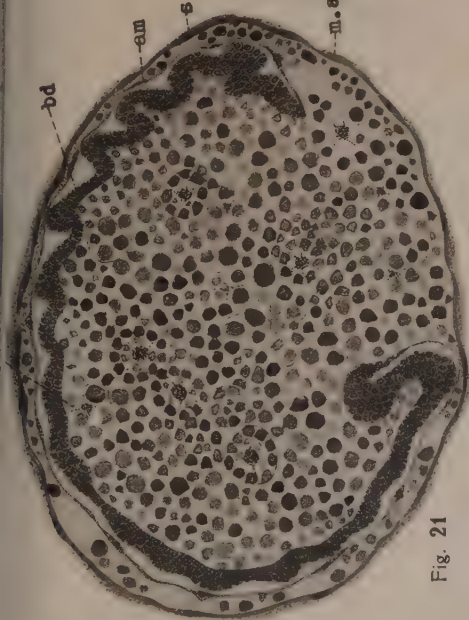


Fig. 21

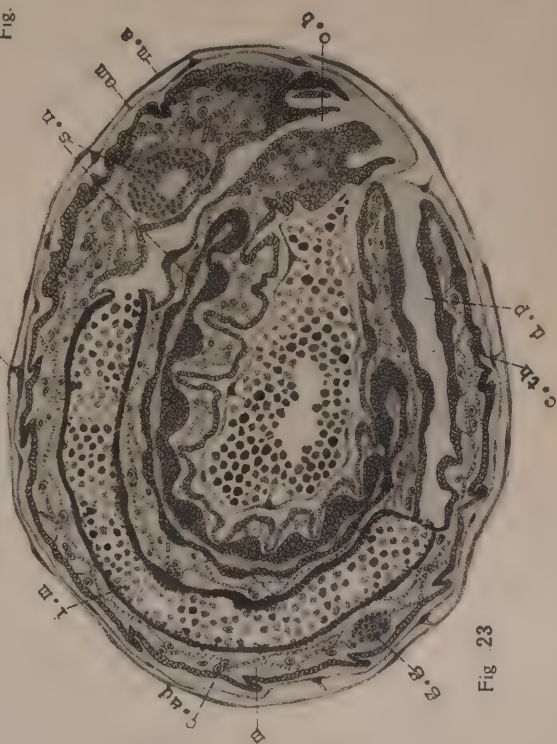


Fig. 23



Fig. 25

PLANCHE VII

FIG. 22. — *Coupe dans le blastoderme de l'œuf fécondé, de race univoltine, vingt-quatre heures après la ponte.*

FIG. 27. — *Coupe dans le blastoderme de l'œuf fécondé, de race univoltine, traité par l'acide chlorhydrique immédiatement après le traitement.*

FIG. 28. — *Coupe dans la bandelette germinative de l'œuf, de race univoltine, au moment de la mise en incubation.*

FIG. 29. — *Coupe dans le vitellus d'un œuf fécondé, de race univoltine, deux jours et demi à trois jours après la ponte.*

FIG. 30. — *Coupe dans le vitellus d'un œuf, de race univoltine, ayant subi le traitement combiné par l'acide chlorhydrique et le froid. Coupe faite immédiatement après la sortie de la glacière.*

FIG. 31. — *Coupe dans le vitellus d'un œuf dans les mêmes conditions que fig. 30, mais six jours après la sortie de la glacière.*

am. = amnios.

bl. = cellules blastodermiques.

bd. = bandelette germinative.

c. v. = cellules vitellines.

g. v. = globules vitellins.

gl. = granules vitellins.

m. a. = membrane d'activation.

m. c. v. = membrane des cellules vitellines.

n. v. = noyaux vitellins.

n. = noyaux.

s. = séreuse.



Fig. 28

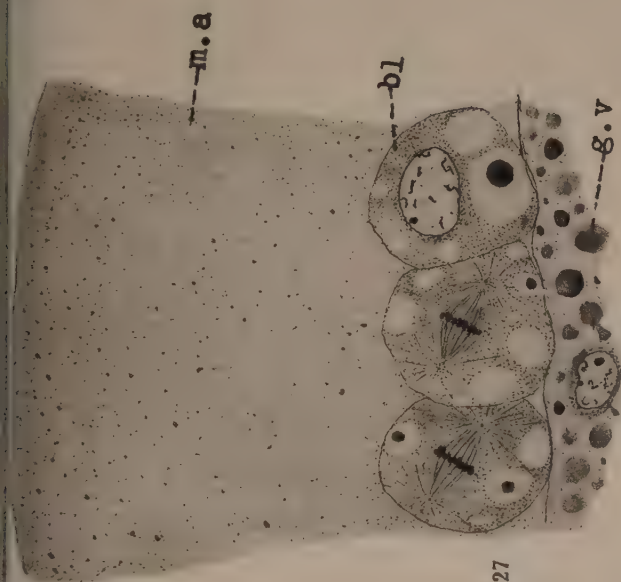


Fig. 27

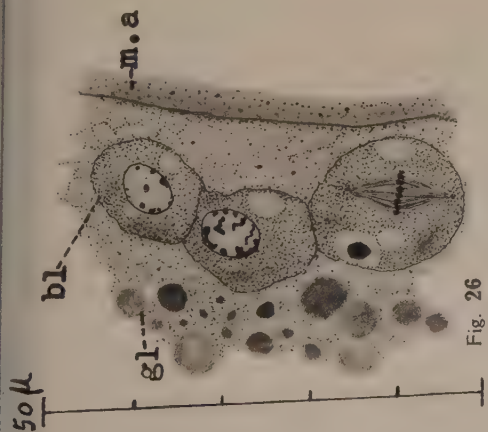


Fig. 26

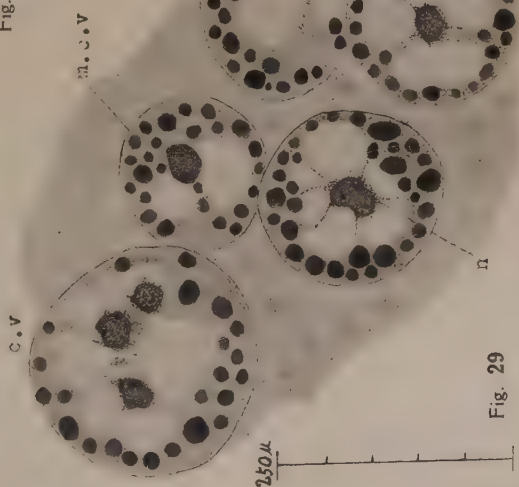


Fig. 29

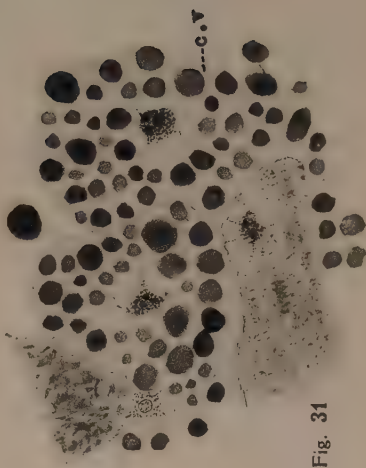


Fig. 31

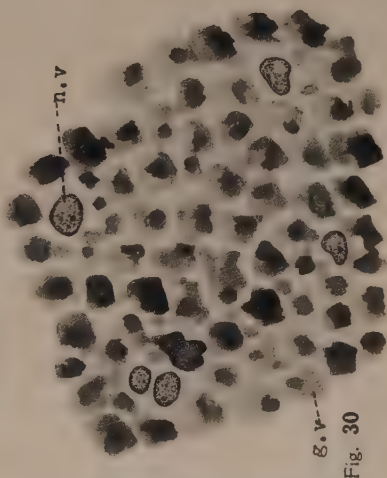


Fig. 30

PLANCHE VIII

- FIG. 32. — Coupe dans la bandelette germinative d'un œuf dans les mêmes conditions que fig. 30, pl. VII (traitement combiné acide chlorhydrique et froid).
- FIG. 33. — Coupe dans le vitellus d'un œuf, de race univolline, traité par l'acide chlorhydrique, quarante-huit heures après le traitement.
- FIG. 34. — Coupe dans la bandelette germinative d'un œuf dans les mêmes conditions que fig. 30, pl. VII (traitement combiné acide chlorhydrique et froid), mais vingt-quatre heures après le traitement.
- FIG. 35. — Coupe dans le vitellus d'un œuf dans les mêmes conditions que fig. 27, pl. VII, mais quatre jours après le traitement par l'acide chlorhydrique.
- FIG. 36. — Coupe dans le vitellus d'un œuf, dix jours après le traitement combiné (acide chlorhydrique et froid).
- FIG. 37. — Coupe dans le vitellus d'un œuf après le traitement combiné par l'acide chlorhydrique et le froid, vingt-quatre heures après le traitement.

- am.* = amnios.
bd. = bandelette germinative.
c. v. = cellules vitellines.
g. v. = globules vitellins.
m. a = membrane d'activation.
n. = noyaux.
s. = séreuse.

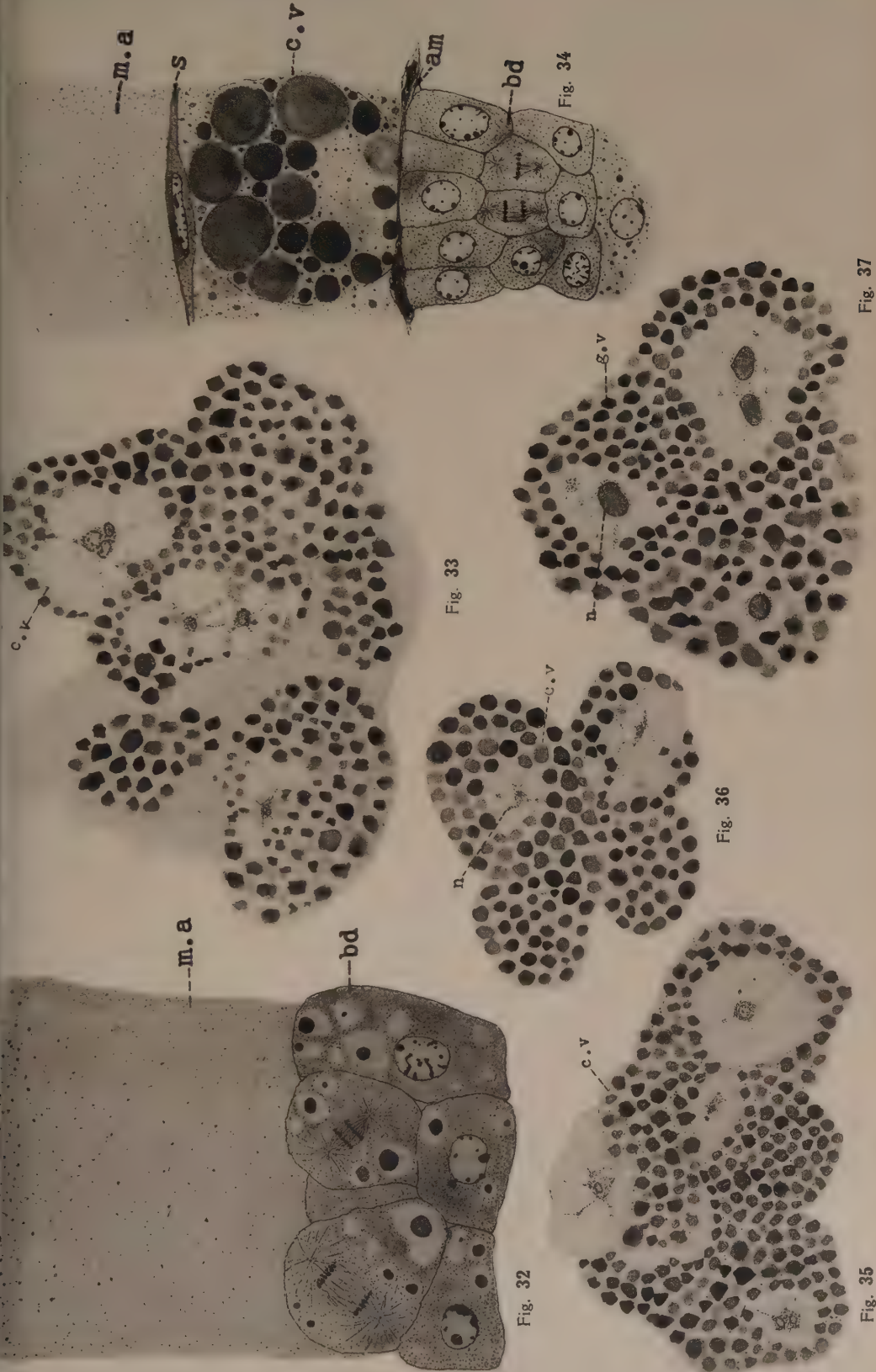


PLANCHE IX

- FIG. 38. — Œuf de race bivoltine de première génération. Coupe dans le vitellus, six jours après la ponte.
- FIG. 39. — Œuf de race univoltine. Coupe dans le vitellus au moment de la mise en incubation.
- FIG. 40. — Œuf de race bivoltine de première génération. Coupe dans la bandelette germinative deux jours après la ponte.
- FIG. 41. — Même œuf. Coupe dans le vitellus deux jours après la ponte.
- FIG. 42. — Même œuf. Coupe dans le vitellus quatre jours après la ponte.
- FIG. 43. — Œuf de race univoltine après traitement combiné par l'acide chlorhydrique et le froid. Coupe dans le vitellus huit jours après le traitement.
- FIG. 44. — Œufs de race univoltine après traitement par l'acide chlorhydrique. Coupe dans le vitellus immédiatement après le traitement.

am. = amnios.

bd. = cellules bandelette germinative.

c. v. = cellules vitellines.

g. v. = globules vitellins.

m. a. = membrane d'activation.

m. c. n. = membrane cellules vitellines.

n. = noyaux.

n. v. = noyaux vitellins.

s. = séreuse.

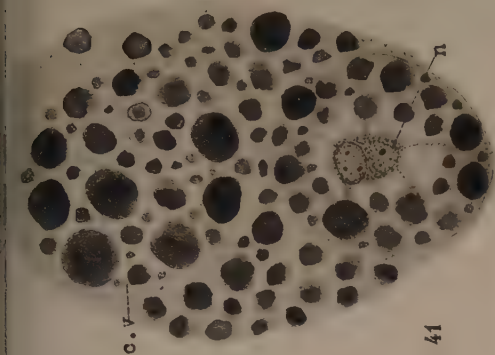


Fig. 41

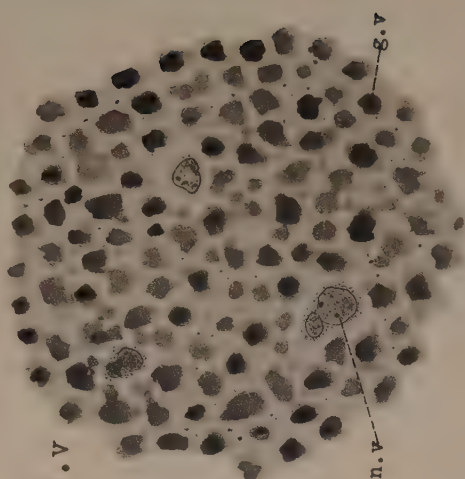


Fig. 44



Fig. 40

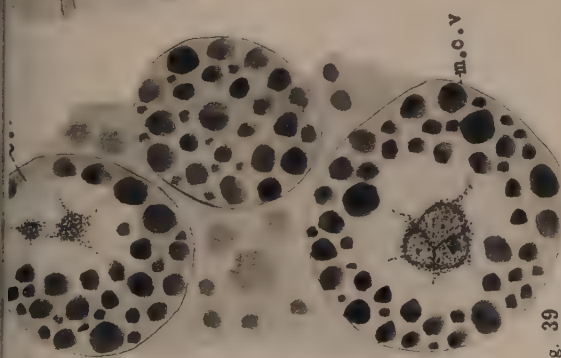


Fig. 39

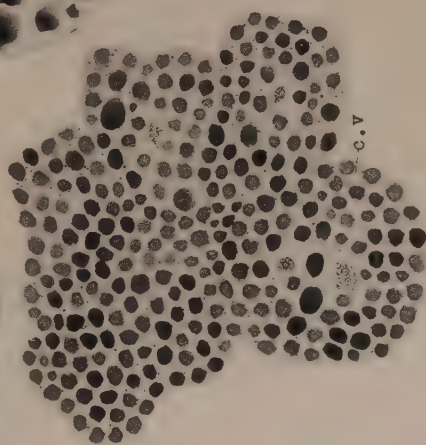


Fig. 43

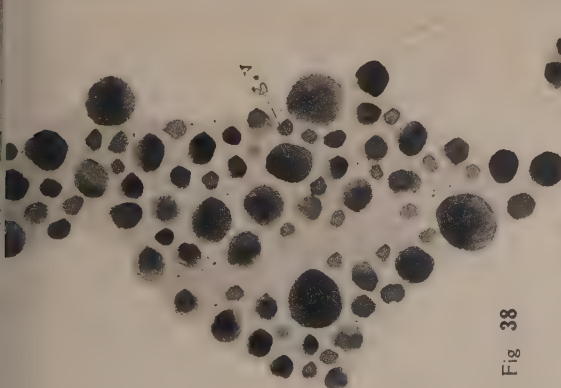


Fig. 38

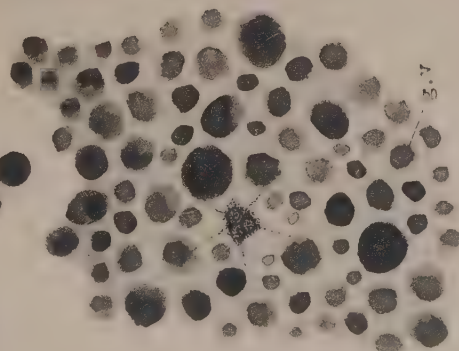


Fig. 42

PLANCHE X

Formation de la membrane séreuse dans l'œuf de race univoltine :

FIG. 45. — *Coupe faite vingt-quatre heures après la
ponte.*

FIG. 46. — *Coupe faite quarante-huit heures après la
ponte.*

FIG. 47. — *Coupe faite trente-six heures après la
ponte.*

FIG. 48. — *Coupe faite soixante-deux heures après la
ponte.*

FIG. 49. — *Coupe faite quatre jours après la ponte.*

FIG. 50. — *Coupe faite cinq jours après la ponte.*

FIG. 51. — *Coupe faite six jours après la ponte.*



Fig. 46



Fig. 48

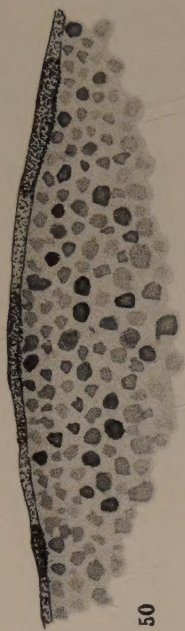


Fig. 50

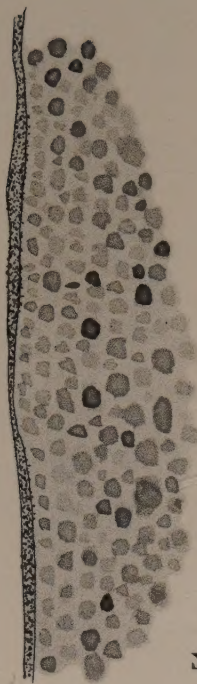


Fig. 51

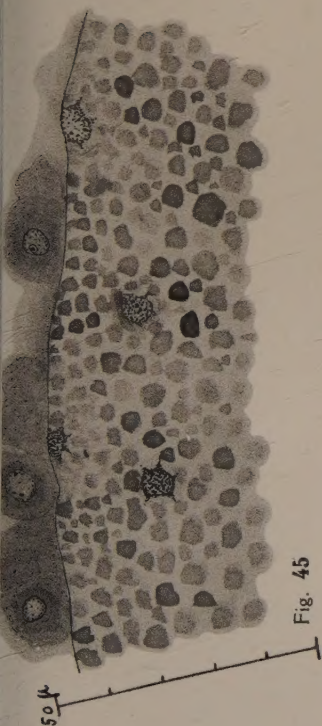


Fig. 45

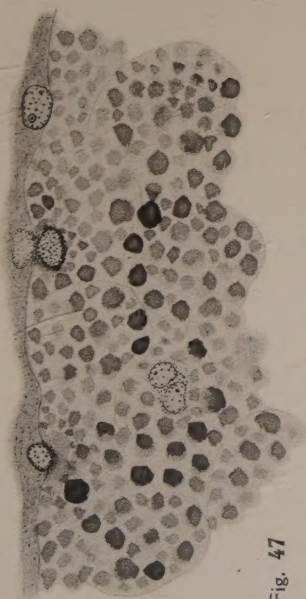


Fig. 47

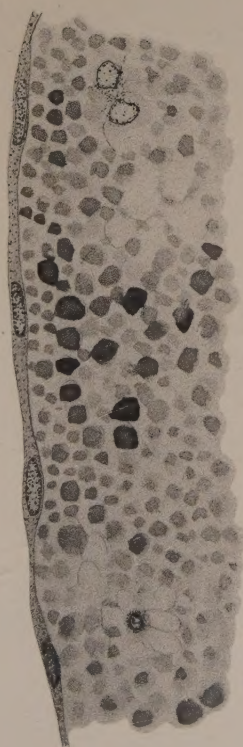


Fig. 49

